ENCYCLOPÉDIE

CHIMIQUE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

M. FREMY

Membre de l'Institut, professeur à l'École polytechnique, directeur du Muséum
Membre du Conseil supérieur de l'instruction publique

PAR UNE RÉUNION

D'ANCIENS ÉLÈVES DE L'ÉCOLE POLYTECHNIQUE, DE PROFESSEURS ET D'INDUSTRIELS

ET NOTAMMENT DE

MM. **H. BECQUEREL**, répétiteur à l'École Polytechnique
BERTHELOT, sénateur, membre de l'Institut; **BOURGOIN**, prof. à l'École de pharmacie
CAMUS, dir. de la Compagnie du Gaz; **AD. CARNOT**, directeur du laboratoire de l'Ecole des Mines
CHASTAIN, pharm. en ch. à l'hôpital de la Pitié; **CLOEZ**, examin. de sortie à l'Ecole polytechn.
DEBIZE, ing. en chef des manuf. de l'Etat; **DEBRAY**, membre de l'Institut
DITTE, professeur à la Faculté des sciences de Caen; **DUCLAUX**, prof. à l'institut agronomique
DUQUESNAY, ingénieur des manuf. de l'Etat; **EUVERTE**, direct. des forges de Terre-Noire
GAUDIN, anc. élève de l'École polyt., prof. de chimie; **GIRARD**, dir. du Laboratoire municipal
GRANDEAU, direct. de la station agron. de Nancy; **L. GRUNER**, insp. général des Mines
HENRIVAUX, sous-directeur de la manuf. des glaces de Saint-Gobain; **JOANNIS**, doct. ès-sciences
JOLY, maître de conférences à la Sorbonne; **JUNGFLEISCH**, prof. à l'Ecole de pharm.
KOLB, administrateur de la soc. des manuf. des produits chim. du Nord
LEMOINE, ing. en ch. des ponts et chauss., répétit. à l'Éc. polytech.; **LODIN**, ing. des Mines
MALLARD, prof. à l'École des Mines; **MARGOTTET**, prof. à la faculté des sciences de Montpellier
MATHEY, direct. des houillères de Blanzy; **MOUTIER**, répétiteur à l'École polytechn.
NIVOIT, prof. à l'École des ponts et chaussées; **OGIER**, doct. ès-sciences
PABST, sous-direct. du Laboratoire municipal; **PRUNIER**, pharm. en chef à l'hôpital du Midi
SCHLAGDENHAUFFEN, prof. à la faculté de méd. de Nancy; **SCHLŒSING**, prof. au Cons. des arts-et-métiers
SOREL, ancien ingénieur des manufactures de l'État; **TERREIL**, aide-naturaliste au Muséum
TERQUEM, professeur; **URBAIN**, répétiteur à l'école centrale des arts et manufactures
VERNEUIL, professeur de chimie; **VIEILLE**, ing. des poudres et salpêtres, etc.,
VILLIERS, chef des trav. pratiques à l'École de pharmacie
et **VIOLLE**, prof. à la faculté des sciences de Lyon.

TOME IX — 1re SECTION — CHIMIE BIOLOGIQUE

Par M. DUCLAUX

Professeur à l'Institut agronomique, Maître de conférences à la Sorbonne

PARIS

DUNOD, ÉDITEUR

LIBRAIRE DES CORPS DES PONTS ET CHAUSSÉES, DES CHEMINS DE FER
DES MINES ET DES TÉLÉGRAPHES

49, Quai des Augustins, 49

1883

PRÉFACE

L'étude des ferments touche à la physiologie par les problèmes qu'elle soulève, mais elle se rattache à la chimie par la façon dont elle les aborde et les résout. A ce titre, M. Fremy a cru devoir lui faire une place dans l'*Encyclopédie* qu'il dirige, et, témoignant en cela d'une largeur d'idées dont je suis seul à ne pouvoir dire ce que je pense, c'est à un élève de M. Pasteur qu'il a demandé de l'exposer avec les développements qu'elle comporte.

J'ai accepté ce travail, séduit par sa nouveauté. Ce n'est que peu à peu que j'ai senti la difficulté de faire entrer dans un exposé méthodique les résultats de plusieurs centaines de Mémoires, de valeurs très inégales, et écrits avec des points de vue aussi divers que peuvent l'être, par exemple, ceux de l'école de Liebig et ceux de l'école de M. Pasteur.

Quelque danger qu'il y eût à faire, pour la première fois, une critique raisonnée et un classement de ces divers travaux, j'ai dû me décider à le tenter. Je l'ai fait, est-il besoin de le dire, sans acception de personnes, et en tâchant de saisir la vérité des choses. Mais il est évident *a priori* que je n'y ai pas toujours réussi, et je demande à l'avance pardon des erreurs que j'ai pu commettre.

Quant à la doctrine, j'ai adopté franchement celle de M. Pasteur. J'ai fait plus, je n'ai parlé que d'elle, je n'ai pris des discussions aux-

quelles elle a donné lieu que les faits nouveaux dont ces discussions ont enrichi la science.

Cela m'a permis de donner à mon exposé une forme dogmatique que je crois utile à employer dans un ouvrage d'enseignement, où le lecteur aime à trouver devant lui des faits et des opinions nettement exprimées. Mais je n'ai pas à faire remarquer que je n'ai pas voulu établir un dogme; c'est un des privilèges de la science d'avoir des croyances et point de foi.

La tournure générale donnée à ce livre ne se serait guère accommodée du genre d'exposition parfois sec et trop puritain des livres élémentaires. J'ai essayé de revenir à la tradition du *Traité de chimie appliquée aux arts*, et de trouver une forme qui, sans être celle des leçons orales, en rappelât au moins un peu les allures et l'ordonnancement.

Cela m'a été d'autant plus facile que ce livre ne fait en somme que rassembler, avec plus de détails et plus de souci d'être complet, les matières de mon enseignement de chimie biologique à la Sorbonne. Une seule des années du cours que j'y professe depuis six ans a été publiée à part sous le titre de *Ferments et Maladies*. (Paris, G. Masson, 1882.)

En essayant de coordonner méthodiquement les travaux divers que j'avais à résumer dans mon cours, j'ai rencontré bien des lacunes. J'ai essayé, au fur et à mesure, d'en faire disparaître quelques-unes, et l'on trouvera disséminés dans ce livre les résultats, pour la plupart inédits, de mes recherches dans cet ordre d'idées. Je citerai surtout les expériences du chapitre VIII sur la durée des germes, toutes les études sur les diastases que je cite sans nom d'auteur, et en particulier le chapitre XIV en entier, la première moitié des chapitres XVII et XX, et enfin les chapitres XLVIII, LVII, LVIII et LIX dans leur entier. Ces derniers ont été publiés dans mon Mémoire sur le lait, inséré dans les *Annales de l'Institut agronomique*, mais les autres résultats n'ont encore reçu que la publicité insuffisante de mon cours public.

Enfin, c'est aussi le titre de mon cours qui m'a donné le titre de ce livre. Je reconnais qu'il est mal choisi, celui de *Microbiologie* vaudrait beaucoup mieux ; mais celui de *Chimie biologique* a l'avantage de se prêter au classement encyclopédique des diverses branches de la chimie, et de se faire ainsi une place naturelle dans la collection dont il fait partie. Il a de plus l'avantage de distinguer très bien la partie de la science à laquelle on l'applique dans cette collection, de la *Chimie physiologique* qui en fera aussi partie, et qui y conservera son ancien nom et son ancien domaine.

Paris, Février 1883.

CHIMIE BIOLOGIQUE

INTRODUCTION

La Chimie biologique comprend l'ensemble des phénomènes, à la fois d'ordre chimique et physiologique, où interviennent comme agents actifs des cellules organisées, toujours privées de chlorophylle, que l'on appelle des *ferments*. Il n'y a pas encore bien longtemps, ces phénomènes n'étaient ni très nombreux, ni très connus. Ils étaient dispersés dans les diverses parties de la chimie organique, et l'obscurité qui les entourait empêchait de s'arrêter volontiers sur eux. Depuis que les travaux de M. Pasteur ont montré leur importance et révélé leur admirable unité, il a fallu leur faire une place à part, et la rapidité avec laquelle s'est développée leur étude leur permet aujourd'hui de constituer une des grandes divisions de la chimie organique, au moins égale en importance à celle qui, sous le nom de chimie physiologique, s'occupe de l'étude au point de vue chimique des produits normaux et pathologiques de l'organisme.

Le domaine de la chimie biologique n'est donc pas fait d'empiètements sur celui des sciences voisines. C'est une conquête nouvelle, à laquelle sont venues s'agréger, par voie d'attraction naturelle, quelques notions plus anciennes qui n'avaient ailleurs qu'une place d'attente et de convention. Le tout constitue un ensemble homogène, ayant avec les autres parties de la chimie, à la fois de nombreux points de contact et des lignes de délimitation bien nettes.

Les ferments enrichissent la chimie organique proprement dite de produits nombreux, dont l'étude a été faite dans les volumes précédents de cette Encyclopédie. Mais l'étude de leur origine a été réservée, et c'est elle que nous allons faire, en délaissant à notre tour le côté chimique de la question, et en abordant seulement son côté biologique.

De même avec la chimie physiologique, il y a des points communs. Ils résultent de ce que tous les produits normaux ou anormaux qu'on découvre dans les cellules de l'organisme se retrouvent dans celles qui constituent les ferments. Envisagée en elle-même, la vie est identique chez les infiniment petits

et chez les êtres les plus élevés en organisation. Mais si, dans cette ressemblance, la chimie physiologique cherchait un droit sur sa sœur cadette, elle pourrait aussi demander, pour les mêmes raisons, à absorber la physiologie. On peut aboutir au même point en suivant des voies très différentes, et tel est le cas pour les deux parties de la science dont nous parlons.

S'il y avait procès, d'ailleurs, peut-être se résoudrait-il en faveur de la dernière venue. Il est, en effet, des phénomènes que la chimie biologique peut, dès aujourd'hui, revendiquer comme étant de son domaine, parce qu'elle en prend l'étude de plus haut et la pousse plus loin que la chimie physiologique. Telles sont les actions de diastases, que personne, il est vrai, ne lui dispute, et que nous traiterons dans la suite de ce travail. Telles sont aussi une foule de questions relatives à la nutrition des cellules et aux mutations de tissus. La supériorité de la chimie biologique, comme moyen d'investigation dans ces difficiles questions, lui vient de ce que les cellules qu'elle étudie sont autonomes, et qu'on est maître pour elle des conditions de nutrition, de température et de milieu, tandis que les cellules organisées en tissus sont astreintes à des servitudes mutuelles, ne peuvent jamais être isolées, et que leurs manifestations vitales sont fonction d'une foule de circonstances dont on n'est jamais complètement maître.

Nous verrons que les notions que l'on a acquises sur les cellules des ferments ont conduit à une physiologie nouvelle. D'un autre côté, chacun sait qu'elles ont servi à éclairer de très obscures questions de pathologie. La chimie biologique ne confine donc que par un côté à la chimie; par l'autre elle sort de son domaine, et pourrait s'appeler la physiologie des infiniments petits. Cette physiologie est moins complexe que l'autre, pour les raisons que nous avons données tout à l'heure, mais elle n'a avec elle que des points de contact. Il y manque précisément ces relations mutuelles, ces répercussions de propriétés qui sont presque la seule étude de la physiologie des animaux supérieurs, en font à la fois la difficulté et l'importance, et lui assurent sa complète autonomie.

Notre domaine étant ainsi bien limité, il n'est pas inutile de rechercher comment il est arrivé peu à peu à se constituer et à se dégager de tout ce qui le cachait et l'encombrait à l'origine. Le mot de fermentation a été si élastique et si complexe, qu'il a embrassé la chimie presque tout entière. Mais il est inutile de faire la revue de l'ensemble de faits auxquels on l'appliquait autrefois. Maintenant que ce mot s'est épuré peu à peu, et qu'il a été revêtu, par les travaux de M. Pasteur, du sens précis qu'on lui prête aujourd'hui, nous avons le droit de simplifier beaucoup l'histoire de son passé. Nous connaissons la route qu'il fallait suivre, les savants qui s'en sont écartés, ceux qui y sont restés. Tel d'entre eux qui n'a parcouru qu'un bout du vrai chemin nous intéresse plus que ceux qui ont longuement erré à droite et à gauche, et le seul historique utile à faire est celui des efforts successifs qui ont abouti à la découverte de la vérité.

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

Les phénomènes de fermentation sont aussi anciens que le monde, et ont dû être observés par les premiers hommes qui ont eu entre les mains le jus écrasé de certains fruits, par exemple celui du raisin. L'espèce de bouillonnement qui s'y produit spontanément, le soulèvement que subit la masse entière, la production continue de petites bulles gazeuses qui viennent crever à la surface, leur ont rappelé l'état d'un liquide placé sur le feu. Il est curieux de voir cette analogie entre l'ébullition et la fermentation alcoolique se traduire dans les langues les plus anciennes. Le nom hébreu du vin (*yine*), vient d'un verbe qui signifie faire effervescence, se soulever, bouillir, et il doit avoir des racines profondes dans les âges, car il a donné le nom du vin à presque tous les peuples de l'Occident. De son côté, le mot fermentation plus récent, vient de *fervere*, bouillir. Le nom allemand de la levure, *hefe*, vient de *heben*, s'élever, et les mots gallo-latins, de *levure* et de *leaven*, expriment les mêmes relations.

Le changement de goût qui se produit dans le liquide fermenté n'a pas dû paraître moins surprenant que la fermentation elle-même, et les noms de Noé, d'Osiris, de Bacchus, témoignent de la reconnaissance des populations pour ceux qui leur ont donné les boissons alcooliques. La fabrication de la bière, sans doute postérieure à celle du vin, parce qu'elle exige davantage l'intervention de l'homme, était cependant connue de la plus haute antiquité, chez les Égyptiens, les Espagnols et les Gaulois.

Quant au pain, il a fallu sans doute encore plus longtemps pour apprendre comment on pouvait l'obtenir avec le grain du blé, si difficile à digérer à l'état brut. La mouture, la cuisson, ont dû constituer des découvertes successives, et il semble que la mise en levain n'ait été connue qu'après. Abraham sert du pain sans levain aux deux anges qui lui apparurent dans la vallée de Mambré; et ce n'est guère que du temps de Moïse qu'on voit apparaître le pain fermenté, qui a été et devait être, dès l'origine, considéré comme impur.

Pendant de longs siècles, on en est resté à ces notions simples. La pratique se perfectionnait peu à peu; on apprenait à conserver le vin en y mélangeant de la résine ou des essences; on le couvrait d'huile à sa surface pour en

empêcher l'acétification. Caton connaissait et pratiquait le soufrage des tonneaux. On améliorait en même temps la fabrication du pain. Celui qu'on mangeait dans la Gaule jouissait, par exemple, de la réputation d'être léger et facile à digérer, parce qu'on le faisait lever au moyen de levure de bière, au lieu de levain ou de farine aigrie. Mais l'étude des phénomènes théoriques de la fermentation a sommeillé jusqu'à la fin du seizième siècle.

Elle a résisté, en effet, au réveil des études chimiques produit au onzième siècle sous l'influence des écrivains arabes, qui, ayant conservé le dépôt des traditions scientifiques des Grecs, le rendirent à l'Occident lorsqu'il s'y fut rétabli un peu de calme. L'alchimie, naissante alors, avait emprunté à l'art sacré du premier millénaire ses mots et ses problèmes, et se proposait un but trop élevé pour s'occuper de phénomènes vulgaires comme la fabrication du pain ou du vin. C'était de l'ingratitude, car l'alchimie tout entière procédait de l'idée de la fermentation, surtout de la fermentation panaire. Une masse de pâte qui, cuite immédiatement, n'aurait donné qu'un pain azyme, difficile à digérer, pouvait, mélangée à du levain, s'échauffer, se boursoufler et fournir alors à la cuisson un pain léger et agréable. Or, ce levain était lui-même une portion de pâte levée, fermentée, qui, disséminée dans le reste de la farine, lui communiquait ses propriétés. On comprend alors pourquoi dans les écrits de Geber, d'Avicenne et de leurs successeurs, la pierre philosophale était assimilée à un ferment. Pourquoi? « Parce que le ferment ou levain est ce qui ramène à sa nature, et couleur, et saveur, les choses à quoi on le mêle. Si on met comme levain un mauvais corps dans un bon, le bon ne deviendra pas mauvais; si on met un corps bon dans un mauvais, le mauvais deviendra bon. » C'était ce que devait faire la poudre de transmutation, qui, ajoutée à un métal vil, devait le transformer en un métal noble, et de là cette assimilation qui nous paraît aujourd'hui si singulière.

Jusqu'au XIII[e] siècle, on ne trouve rien de nouveau sur ces questions. Elles se posent pourtant peu à peu et on essaie une classification des phénomènes, ce qui est le premier pas dans leur étude. Pendant que certains alchimistes confondent ensemble la digestion, la putréfaction et la fermentation, d'autres, comme Libavius, les distinguent. Mais tout cela se fait sans raisons solides.

Ce n'est pas qu'il soit difficile de trouver, dans les écrits publiés à cette époque, des phrases où l'on peut voir, avec un peu de bonne volonté, comme l'aurore et quelquefois l'énoncé de découvertes récentes. Mais il ne faut jamais oublier, en lisant ces vieux auteurs, le monde où ils vivaient, et les conditions dans lesquelles ils écrivaient. Le moyen âge a échappé à la loi générale qui veut que chez les peuples qui s'ouvrent à l'intelligence, l'imagination et la poésie précèdent le raisonnement et la philosophie. Les circonstances ont fait qu'il n'a eu, pour se façonner l'esprit, que les creuses spéculations de la théologie scolastique qu'il avait empruntée aux Grecs d'Orient, ou la métaphysique d'Aristote, que les Arabes d'Espagne et d'Afrique lui avaient transmise après avoir renchéri sur ses subtilités. Même dans les sciences qu'ils avaient cultivées avec le plus d'ardeur et de succès, la géométrie, l'astronomie, et surtout la médecine, les Arabes avaient introduit cet esprit de spéculation raffinée, ce

goût de la dialectique et de la controverse qui les distingue encore. Or, ils ont été, directement ou indirectement, par leurs écoles d'Espagne ou par leurs écrits, les éducateurs de tous les hommes marquants des XIIe, XIIIe et XIVe siècles et, par eux, ceux du moyen âge tout entier. Aussi ne faut-il pas s'étonner de la place que tient la dissertation dans tous les livres de sciences écrits à cette époque. Elle est le vêtement naturel du fait. Pour Raymond Lulle, l'eau-de-vie n'est pas l'eau-de-vie, c'est la quintessence du vin, une espèce d'un genre qui en comptait plusieurs, et parmi elles des propriétés divines. De là naturellement des spéculations et des discussions sans objet et sans fin, dans lesquelles il serait bien étonnant que ne soient pas entrées de temps en temps des parcelles de vérité. En disputant le vrai avec du faux, le faux avec du vrai, il est impossible de ne pas dire quelquefois juste; mais qu'importe, si on ne sait pas où est l'erreur et où est la vérité.

En résumé, à raison du mode général d'éducation des esprits au moyen âge, le mot a souvent chez eux précédé l'idée, et l'idée a presque toujours, dans les sciences, précédé le fait. Le mot n'a aucune valeur par lui-même; une idée, tant qu'elle reste une vue de l'esprit, est toujours en balance avec une idée contraire; seul, le fait est probant et entraîne la conviction. Or, des faits, les alchimistes n'en ont guère trouvés sur la question de la fermentation. Les définitions qu'ils en donnent ne sont que des paraphrases obscures et prétentieuses des phénomènes que l'on peut observer dans la fabrication du vin ou dans celle du pain. Ils font allusion tantôt au dégagement du gaz (*exaltatio*), tantôt à ce que le pain fermenté peut à son tour servir de levain (*immutatio*), et comme ils ne savent rien ni sur la nature de la substance qui fermente, ni sur celle des produits (sauf pour l'alcool, connu depuis longtemps), il leur est difficile de sortir des généralités sans portée.

C'est à Paracelse (1493-1541) qu'il faut rapporter l'honneur d'avoir provoqué des études sérieuses, en montrant la vanité du peu que l'on savait. Bien qu'il ait apporté par lui-même peu de faits nouveaux, ses allures militantes, son grand esprit, son dédain pour les connaissances de tradition et les spéculations philosophiques introduites dans la science, devaient exercer une action puissante sur ses contemporains. A l'attrait des études en elles-mêmes, il ajoutait l'appât d'un intérêt immédiat. Pour lui, l'homme est un composé chimique; les maladies ont pour cause une altération quelconque de ce composé; les fièvres putrides, par exemple, sont dues à des substances excrémentitielles qui, au lieu d'être rejetées, sont retenues dans l'économie. De là l'utilité de rechercher les médicaments chimiques qui peuvent combattre efficacement ces maladies.

Aussi le dix-septième siècle ouvre-t-il l'ère des découvertes.

Van Helmont distingue, pour la première fois, l'acide carbonique des autres gaz, et voyant qu'il s'en dégage dans la fermentation des vins, que c'est lui qui les rend pétillants et mousseux, qu'il s'en dégage aussi dans la digestion, la putréfaction, l'action des acides sur les carbonates, il est conduit à assimiler tous ces phénomènes. Dans son enthousiasme de chercheur heureux, il pousse même son idée jusqu'à l'exagération, en prétendant que toute modification dans l'organisme, y compris la génération, provient d'un ferment.

Cette idée de corrélation entre la fermentation et les phénomènes normaux

et pathologiques de l'être vivant a plus ou moins préoccupé tous ceux qui ont écrit sur ces matières. On la retrouve, sous une forme nette, chez un contemporain de Van Helmont, expérimentateur habile comme lui, mais plus original et plus fécond, R. Boyle, qui, dans un *Essai sur la partie pathologique de la physique*, écrit la phrase remarquable qui suit : « Je dis de nouveau que je ne prétends pas que la chimie vulgaire peut permettre à un médecin d'expliquer tout ou partie des phénomènes pathologiques, mais que la vraie chimie peut lui servir à comprendre quelques-uns d'entre eux que l'on ne peut guère expliquer sérieusement sans elle, et j'ajoute que celui qui comprendra entièrement la nature des ferments et des fermentations sera probablement, bien plus que celui qui l'ignore, en mesure de rendre compte d'une manière satisfaisante de divers phénomènes présentés par plusieurs maladies (les fièvres aussi bien que les autres), phénomènes qui ne seront probablement jamais bien compris sans une connaissance intime de la doctrine des fermentations. »

Nous savons combien l'avenir a justifié les prédictions de Robert Boyle. Passons rapidement sur Kunckel (1630-1702), qui prétend que les maux d'estomac ont pour cause des impuretés qui fermentent, en s'appuyant sur ce que les acides et les plantes amères qui arrêtent la fermentation servent aussi à guérir les maladies de l'estomac; et arrivons au savant qui a le mieux résumé les connaissances et les idées de son époque sur les fermentations. Becher (1628-1685) avait étudié ce sujet plus qu'aucun de ses contemporains. « J'ai passé, dit-il, quelques années dans la pratique des fermentations, de façon à bien tout voir, et ce n'est pas d'après Angelo Sala et d'autres compilateurs que j'écris. »

De fait, il a sur l'ensemble et les détails du phénomène des idées assez justes et bien développées. Pour lui : « la fermentation est un acte dans lequel le mixte tout entier ou quelques-unes de ses parties semblables se raréfient, et en s'unissant donnent un nouveau mixte capable de servir à d'autres usages. Les végétaux ne se putréfient qu'après avoir fermenté; mais chez les animaux, il peut y avoir des fermentations sans putréfaction, par exemple, dans le sang. On distingue deux espèces de fermentations : la fermentation propre et l'acétification. La première est particulière aux moûts sucrés. Les décoctions de certaines plantes, comme l'orge germé, peuvent aussi l'éprouver, mais après avoir subi une opération qui y développe le principe sucré. Elle a pour cause catharctique le ferment. Trop d'alcool l'arrête en précipitant le ferment ou bien les parties les plus lourdes fermentifiantes. Elle est aussi empêchée par la chaleur, et du moût évaporé, puis étendu d'eau de façon à être ramené à son état primitif, fermente beaucoup plus mal que le moût normal. Enfin, la raréfaction subie par les constituants du mixte provient de la chaleur interne du ferment, car on voit toutes les petites bulles gazeuses qui se dégagent provenir de celui-ci. »

Cette dernière remarque, interprétée avec nos idées actuelles, peut revêtir un sens très profond, mais à la condition d'y ajouter ce que Becher n'y a jamais mis, car il veut dire simplement que les bulles de gaz proviennent du ferment, comme les bulles de vapeur, dans un liquide en ébullition, proviennent du point le plus chauffé du vase. Cependant l'observation n'en est pas

moins juste et fait reconnaître un homme qui a regardé de près les fermentations. Pourquoi Stahl, son élève, qui l'admirait tant, qui a donné une édition de ses œuvres, ne l'a-t-il pas imité? Sa haute intelligence et son esprit fécond et généralisateur eussent fait rapidement avancer la science sur ce point important, s'il eût consenti à l'étudier.

Malheureusement, Stahl était un théoricien. Il avait découvert un fait important, c'était que le charbon, corps combustible, pouvait, lorsqu'on le chauffait avec une terre (un oxyde métallique), transmettre à cette terre la propriété de brûler, tout en la perdant lui-même, et sur ce fait très général il avait bâti une théorie plus générale encore, et qui a longtemps eu cours, mais si peu solide qu'il a suffi, pour la renverser, d'une expérience bien faite, celle de Lavoisier. Moins solide encore était sa théorie de la fermentation, où il introduisit, en les appuyant de sa grande autorité, des idées professées avant lui par Willis. Pour Stahl, « tout corps amené à l'état de putréfaction transmet très facilement cet état à un autre corps exempt encore de corruption. C'est ainsi qu'un pareil corps, entraîné déjà dans un mouvement intérieur, peut entraîner avec la plus grande facilité, dans un semblable mouvement intérieur, un autre corps encore en repos, mais disposé par nature à un pareil mouvement. » Il y a deux périodes dans la fermentation. Dans la première, les différentes molécules de la matière fermentescible s'agitent doucement, et des parties plus ou moins atténuées s'unissent ensemble. Dans la seconde, les parties se séparent du mixte en vertu du mouvement qui les anime, et les parties analogues se réunissent à l'exclusion des autres.

Le ferment n'intervient que pour communiquer son mouvement aux parties analogues de la liqueur fermentescible. Son action est donc, dirions-nous aujourd'hui, purement dynamique. Hâtons-nous de nous rappeler pourtant qu'il ne faut pas interpréter les théories anciennes avec nos idées modernes. L'idée de Stahl tire son origine profonde de deux sortes de faits, de la fabrication du pain et de celle du vin, la première correspondant à la période initiale de la fermentation, pendant laquelle l'agitation est faible, et où les parties analogues au ferment deviennent ferment à leur tour; la seconde, caractérisée au contraire par le mouvement violent d'ébullition que communique au liquide le gaz, l'*esprit* qui s'en dégage. Généralisez ces deux phénomènes, et vous avez la définition de Stahl et aussi celle de ses prédécesseurs. Si elle a fini par prendre chez Stahl une forme plus précise, c'est que les théories atomiques de Descartes avaient pénétré en chimie, et que, antérieurement à Stahl, cette science était déjà encombrée d'explications où les atomes pointus de certains corps et les parties pliantes de certains autres jouaient constamment un rôle. Pour en prendre un exemple dans le sujet qui nous occupe, voici ce qu'écrivait Lefèvre dans son traité de chimie, trente ans avant Stahl (1669) : « La fermentation est un mouvement de l'acide et de l'urineux ou alcali, qui combattent ensemble et donnent du mouvement aux particules qui composent le mixte ». Quinze ans après Lefèvre, Lémery donnait à son tour la définition suivante : « La fermentation est une ébullition causée par des esprits qui, cherchant issue pour sortir de quelques corps, et rencontrant des parties terrestres et grossières qui s'opposent à leur passage, font gonfler et raréfier la matière jusqu'à ce qu'ils soient détachés. Or,

dans ce détachement, les esprits divisent, subtilisent et séparent les principes, de sorte qu'ils rendent la matière d'une autre nature qu'elle était auparavant».

Il nous est impossible de voir dans la théorie de Stahl autre chose que ce qui se trouvait renfermé dans les définitions de Lefèvre et de Lemery, et probablement des autres chimistes de l'époque. On a dit que cette théorie était philosophique et séduisante : nous ne discuterons pas la question de savoir si elle mérite ces deux qualifications. Le propre d'une théorie n'est pas d'être philosophique ou séduisante, elle n'a même pas besoin d'être vraie au sens absolu du mot, il lui suffit d'être féconde. Or, la théorie de Stahl ne l'a pas été.

Le progrès dans la question est venu du dehors, et a eu pour origine les faits nouveaux observés dans l'étude des gaz par des savants contemporains de Stahl. Moitrel d'Elément (1719) apprend à rendre les gaz visibles en les faisant passer au travers de l'eau; Hales (1677-1761) enseigne à les manipuler en les faisant circuler au travers de tubes en verres ou en métal; Black, enfin, (1728-1799) les étudie dans leur nature, et les distingue les uns des autres. Il isole, en particulier, l'acide carbonique, en reconnaît les propriétés, et découvre, ce que n'avait pu faire Van Helmont, qu'il est l'unique produit de la fermentation alcoolique, de la combustion du charbon, de l'action des acides sur les alcalis carbonatés. De là, chez lui, l'idée tant de fois émise de rapprocher ces divers phénomènes. Un contemporain de Black, Macbride, fait un pas de plus, et remarquant que la combustion du carbone, la dissolution des terres calcaires par les acides, ont pour caractère commun de détruire la cohésion des solides, et de donner un dégagement d'acide carbonique, il est conduit à attribuer à la présence de ce gaz la cohésion des animaux et des végétaux. La putréfaction les désagrège en les privant d'*air fixe*, et Macbride base sur cette remarque inexacte toute une série de considérations, très goûtées en leur temps, sur les fièvres putrides et infectieuses.

Mais en somme, à la suite des travaux de Black, la question des fermentations était bien avancée. On savait que le sucre disparaissait, on savait qu'il se formait de l'alcool et de l'acide carbonique. On avait donc en main les éléments principaux de la connaissance du phénomène, il fallait seulement les coordonner et établir leurs relations mutuelles : ce fut l'œuvre de Lavoisier. Il lui suffit pour cela d'appliquer à l'étude de la fermentation l'idée féconde qui lui avait servi à renouveler la face de la chimie, l'idée d'employer la balance. Il est assez curieux que ce soit dans son Mémoire sur la fermentation alcoolique, c'est-à-dire à propos d'une opération dans laquelle, comme nous le verrons plus tard, la vérification complète de son principe est presque impossible à réaliser, qu'il le développe le plus complaisamment, et en affirme le plus fermement la vérité.

C'est, en effet, dans ce mémoire, que se trouvent ces fameuses propositions : « Rien ne se perd, rien ne se crée ni dans les opérations de l'art, ni dans celles de la nature, et l'on peut poser ce principe que, dans toute opération, il y a une égale quantité de matière avant et après l'opération, que la qualité et la quantité des principes est la même, et qu'il n'y a que des changements, des modifications. »

Comme conclusion, il pèse un vase rempli d'eau dans laquelle il avait ajouté un poids donné de sucre et un peu de levure de bière, il mesure, par la perte

de poids subie par le vase, l'acide carbonique dégagé pendant la fermentation, il sépare ensuite l'alcool formé par distillation, le pèse, et trouve enfin que la somme des poids de l'alcool et de l'acide carbonique donne à très peu près le poids du sucre primitif. Le sucre se dédouble donc simplement en alcool et en acide carbonique. Mais il y a plus, et la relation qui existe entre les poids de ces trois substances doit se vérifier aussi pour les éléments qui les constituent. Il suffit donc de connaître la composition de ces trois corps pour dresser le bilan détaillé de la réaction, que Lavoisier résume en ces termes : « Les effets de la fermentation vineuse se réduisent à séparer en deux portions le sucre qui est un oxide, à oxigéner l'une aux dépens de l'autre pour former de l'acide carbonique, à désoxigéner l'autre aux dépens de la première pour en former une substance combustible qui est l'alcool, de sorte que, s'il était possible de recombiner ces deux substances, l'alcool et l'acide carbonique, on reformerait du sucre ».

Il est vrai que les analyses de Lavoisier n'étaient pas très exactes, qu'il croyait que la fermentation vineuse s'accompagnait de la formation d'un peu d'acide acétique, qu'il a commis une erreur sur la composition centésimale du sucre, que l'alcool qu'il a pesé était trop aqueux.

Par un fait heureux, ses erreurs étaient en sens inverse et se sont compensées, et le résultat définitif est exact. Le problème n'était pourtant pas complètement résolu. Lavoisier en avait élucidé le côté chimique; il en avait complètement négligé ce que nous appelons aujourd'hui le côté physiologique, celui qui depuis s'est le plus développé. Qu'était-ce que cette levure qu'on était obligé d'ajouter à l'eau sucrée pour la faire fermenter, sans laquelle le phénomène ne se produisait pas, et qui semblait pourtant ne jouer aucun rôle dans son explication? On la connaissait comme une espèce d'écume superficielle ou de dépôt de fond des liqueurs fermentées, en qui résidait une force occulte. Sa composition la rapprochait des substances animales. Quant à sa forme, déjà en 1680, Leuwenhoeck avait vu, qu'examinée au microscope, elle se présentait comme un amas de globules ovoïdes ou sphériques. Cette observation, restée oubliée ou stérile, fut refaite depuis par divers savants et resta tout aussi stérile. Ce fut en 1836 seulement que Cagniard Latour lui imprima son caractère fécond. En ensemençant dans du moût de bière ces globules ovoïdes isolés de levure, il vit, qu'au bout de quelque temps, chacun d'eux avait bourgeonné et était devenu double. Ces deux globules unis bourgeonnaient à leur tour, et après quelques heures on les retrouvait en groupes multiples, rappelant par leur forme et leur mode de végétation certaines plantes grasses de nos jardins. La levure était donc quelque chose de vivant.

Cagniard-Latour a le mérite d'avoir insisté sur ce fait et d'avoir ajouté que si la levure agissait sur le sucre, c'était probablement « par quelque effet de sa végétation et de sa vie ».

Mais cette idée heurtait trop violemment les opinions reçues pour être admise sans conteste. Il faut avouer, d'ailleurs, qu'elle ne se défendait guère contre les objections.

Son unique base était la forme arrondie de la levure et son bourgeonnement. Mais Ehrenberg avait montré que beaucoup de précipités, minéraux et organiques, avaient aussi des formes arrondies et globuleuses. Quant au bourgeon-

nement, il pouvait être une illusion résultant du rapprochement fortuit d'un gros globule et d'un petit. Comment croire, d'ailleurs, à l'importance du rôle joué par la levure dans la fermentation alcoolique, lorsque dans d'autres fermentations très voisines, dont l'analogie avec celle du sucre ne pouvait être contestée, on ne retrouvait rien de pareil ? Telles étaient, par exemple, la fermentation lactique, la fermentation butyrique. En revanche, toutes ces fermentations présentaient un caractère commun qui les rattachait à la putréfaction et aussi à la digestion. C'est qu'elles s'accomplissaient toutes en présence d'une matière organique en voie de décomposition. On mettait en train une fermentation lactique, butyrique, au moyen de vieux fromage, de viande pourrie.

Pour la fermentation alcoolique, Colin (1828) avait montré qu'une foule de substances organiques azotées, différentes de la levure de bière et en voie d'altération, peuvent déterminer au bout de quelques heures la fermentation alcoolique de l'eau sucrée dans laquelle on les place. La levure de bière, matière azotée aussi, devait jouer un rôle analogue, et si elle produisait la fermentation, c'était non pas par suite de son bourgeonnement et de sa vie, mais par suite de la décomposition qu'elle subissait, décomposition dont quelques résultats erronés de Thénard semblaient fournir la preuve.

Telle est, en substance, la série des raisonnements sur lesquels Liebig établit sa théorie des fermentations, publiée en 1839, et jusque-là sa conclusion était inattaquable, parce qu'elle était suffisamment adéquate aux seuls faits connus jusqu'alors. Mais il voulut y ajouter une explication du phénomène, et pour cela, il imagina sa célèbre théorie du mouvement communiqué. « La levure de bière, et en général toutes les matières animales et végétales en putréfaction, reportent sur d'autres corps l'état de décomposition dans lequel elles se trouvent elles-mêmes. Le mouvement qui, par la perturbation d'équilibre, s'imprime à leurs propres éléments, se communique également aux éléments des corps qui se trouvent en contact avec elles. Par exemple, le sucre est un composé stable vis-à-vis de certaines influences extérieures, mais un édifice fragile vis-à-vis des mouvements moléculaires des substances organiques en décomposition, et se dédouble facilement, sous leur action, en alcool et en acide carbonique. »

C'était entrer dans la région de la pure hypothése. Liebig chercha pourtant à étayer sa théorie, et à expliquer le jeu de la communication de mouvement à l'aide d'un nombre considérable d'exemples empruntés à la chimie minérale et organique. En relisant son travail aujourd'hui, on est tout surpris de constater que presque tous les exemples qu'il invoque, non seulement n'ont aucune analogie avec le phénomène de la fermentation, mais n'ont même entre eux que des analogies très vagues, et que les progrès de la science ont conduit à les ramener à des chefs très divers. Aussi, bien que cette théorie ait eu son temps de faveur et ait été défendue par Liebig jusqu'à son dernier jour, elle n'a plus pour nous qu'un intérêt historique. Il a suffi pour la renverser d'une expérience bien faite.

La théorie de Liebig exige, en effet, la présence, à l'intérieur du liquide qui fermente, d'une certaine quantité de matière organique autre que le sucre. Or, M. Pasteur réussit à provoquer la fermentation complète d'un liquide sucré où

il n'ajoute que des matières minérales et une trace de levure, et cette levûre, au lieu de se détruire, de se décomposer, comme le veut la théorie de Liebig, bourgeonne, se développe, augmente de poids, de telle sorte qu'on en retrouve à la fin vingt ou trente fois plus qu'on n'en a semé. L'expérience est trop importante pour que je ne la cite pas tout entière, sous la forme définitive qu'ont réussi à lui donner les efforts de son auteur.

« Prenons un ballon de 3 à 4 litres à deux tubulures (fig. 1), et introduisons-y

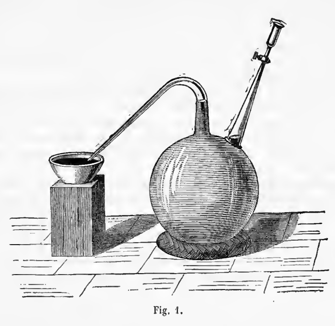


Fig. 1.

de l'eau distillée pure, dans laquelle on aura fait dissoudre, pour 200 grammes de sucre candi, 1 gramme et demi de sulfate d'ammoniaque, autant de cendres obtenues par la calcination de la levure, un gramme de bitartrate de potasse, et un demi-gramme de bitartrate d'ammoniaque. Faisons bouillir, afin de priver de vie tous les germes d'organismes que l'air, le liquide et les parois du ballon peuvent contenir, et laissons refroidir après avoir placé, pour plus de sûreté, un pinceau d'amiante à l'extrémité de la tubulure effilée et recourbée que porte le ballon, et qui doit servir de tube de dégagement. Alors introduisons une trace de levure dans le liquide par l'autre tubulure. »

« Par exemple, le 9 décembre 1873, on sème de la levure pure. Dès le 11 décembre et, par conséquent, quarante-huit heures seulement après la mise en levain, on voit s'élever du fond, presque continuellement, une foule de petites bulles microscopiques, annonçant qu'en ce point il y un commencement de fermentation. Les jours suivants, plusieurs îlots de mousse paraissent à la surface du liquide. On laisse le ballon tranquillement abandonné à l'étuve à 25 degrés. Le 24 avril 1874, on essaie s'il reste encore du sucre dans la liqueur, on trouve qu'il en reste moins de 2 grammes, de sorte que 198 grammes ont déjà disparu. Quelque temps après, la fermentation était complète. »

« Rien absolument d'étranger à la levure, qui était abondante, ne s'est développé, circonstance qui, jointe à la vitalité de l'espèce de levure employée, malgré le peu de convenance du milieu pour sa nutrition, a permis le complet achévement de la fermentation. Le poids total de la levure, après lavage et dessication à 100 degrés, a été de 2 gr., 563 ».

La fermentation alcoolique, loin d'être corrélative de la décomposition et de la mort de la levure, est donc au contraire corrélative de son développement et de sa vie. Il en est de même pour les autres fermentations; chacune a son ferment spécifique, son espèce de levure. Le ferment lactique est un petit végétal cellulaire, plus petit que la levure; le ferment butyrique est un vibrion, etc. La découverte de ces divers ferments et la démonstration de leur spécificité sont également dues à M. Pasteur.

Mais on peut faire un pas de plus, et montrer que la putréfaction obéit aux mêmes lois. La chose semble plus difficile au premier abord, car l'idée de putréfaction s'accompagne, dans l'esprit, de l'idée de matières organiques en décomposition, c'est à-dire de ces substances dont il s'agit de démontrer l'inutilité pour la production du phénomène; mais nous allons arriver par un détour à la même conclusion que plus haut.

Recommençons l'expérience que nous venons de faire, en remplaçant seulement le sucre candi par du lactate de chaux, et, au lieu d'ensemencer le liquide avec de la levure de bière, ajoutons-y quelques gouttes de liquide emprunté à une fermentation butyrique en activité. Des phénomènes analogues à ceux de la fermentation alcoolique vont se produire, et il se dégage un gaz qui, au lieu d'être de l'acide carbonique pur, est un mélange de ce gaz et de gaz hydrogène. Ce mélange est très peu odorant à cause de l'absence presque complète du gaz hydrogène sulfuré. Le liquide, examiné au microscope, se montre peuplé de bâtonnets très agiles, et à mouvements onduleux, qnelquefois coudés et mobiles sur leurs articulations, ce qui témoigne qu'ils se reproduisent par segmentation dans leur longueur, par scissiparité. Quand tout sera terminé, nous aurons obtenu un poids sensible de ces bâtonnets, de ces vibrions, dont tous les matériaux auront été empruntés au lactate de chaux et aux sels en dissolution, tandis que le reste du lactate de chaux sera devenu du butyrate de chaux, c'est-à-dire une des substances qui se forment par la putréfaction des matières animales complexes.

Remplaçons maintenant le lactate de chaux par de l'albumine pure, de la fibrine, ou une matière azotée analogue, et ajoutons un peu de carbonate de chaux destiné à maintenir la neutralité de la liqueur, puis une goutte d'un liquide organique en putréfaction, par exemple, de bouillon de viande : nous verrons se multiplier dans la liqueur des vibrions analogues à ceux que nous avons vus à l'œuvre tout à l heure. La fibrine solide, l'albumine coagulée ou en dissolution, disparaîtront peu à peu en donnant des produits pareils à ceux que l'on rencontre dans la putréfaction des matières animales. En même temps, à raison du soufre et du phosphore que renferment les substances sur lesquelles on opère, les gaz qui se dégageront commenceront à montrer l'odeur propre de la putréfaction, et cette odeur sera encore plus forte, si on opère sur des pois, des haricots, des asperges, ou bien des matières animales complexes. Mais dans

tous les cas ce sera le même phénomène, et toujours les transformations subies par les matières, simples ou complexes, que l'on aura soumises à la putréfaction, seront corrélatives du développement dans l'intérieur du liquide d'un ou de plusieurs ferments spécifiques. Ce n'est pas parce qu'elles se putréfient qu'elles sont ferments, c'est parce qu'elles renferment des ferments vivants qu'elles se putréfient.

Nous aurons bientôt à pénétrer plus avant dans l'étude de la cause même du phénomène de fermentation. Nous avons tout d'abord une question importante à résoudre. D'où viennent ces êtres vivants dont nous avons vu le concours indispensable pour la transformation de toutes les matières fermentescibles ou putrescibles ? Prennent-ils naissance aux dépens des matières elles-mêmes, grâce à une force d'organisation qui leur serait particulière, ou bien proviennent-ils de germes préexistants ? Obéissent-ils aux mêmes lois de reproduction que les êtres supérieurs, ou bien sont-ils des produits de la génération spontanée ?

BIBLIOGRAPHIE

Libavius. — *Commentarii alchymiæ*, 1594.

Van Helmont. — *Ortus medicinæ, id est initia physicæ inaudita. Amstelodami*, 1652.

Sylvius (Franz de la Boë). — *Disputatio de alimentorum fermentatione in ventriculo. — Amstelodami*, 1659 et 1663.

Becker. — *Physica subterranea*, 1669.

Lefevre. — *Traité de chimie*, 1669.

Leuvenhœck, — *Arcana natura detecta, Delphis Batavorum*, 1680.

Thomas Willis. — *Diatribæ duæ: 1° De fermentatione, sive de motu intestino particularum in quoris corpore; 2° De febribus sive de motu earumdem in corpore animalium. — Amstelodami*, 1682.

Lemery. — *Traité de chimie*, 1684.

Stahl. — *Zymotechnia fundamentalis*, 1697.

Macbride. — *Experimental essays*, 1764.

Lavoisier. — *Traité de chimie*, Paris, 1789.

Fabroni. — Mémoire sur les fermentations vineuse, putride, acéteuse. *Annales de chimie*, t. XXI, p. 799.

Thénard. — Mémoire sur la fermentation vineuse. *Annales de chimie*, t. XLVI, 1803.

Colin. — Mémoire sur la fermentation vineuse. *Annales de chimie et de physique*, 2e série, t. XXVIII, 1825.

Dumas et Boullay, *Annales de chimie et de physique*, t. XXXVII, 1828.

Desmazières. — *Annales des sciences naturelles*, t. X, 1826.

Colin. — Mémoire sur la fermentation vineuse. *Annales de chimie et de physique*, t. XXVIII, 2e série, 1828.

Cagniard-Latour. — Mémoire sur la fermentation vineuse. *Annales de chimie et de physique*, 2e série, t. XXVIII, 1828. — Journal l'*Institut*, 23 novembre 1836.

Th. Schwann. — *Vort. mitth. betr. Versuche uber die Weingährung und Faulniss. Annalen der Physik und chemie*, 1837, t. XLI.

Liebig. — Sur les phénomènes de fermentation et de putréfaction. *Annales de chimie et de physique*, t. LXI, 1839.

Pasteur. — Mémoire sur la fermentation alcoolique, *Ann. de chim. et de phys.*, t. LXVIII, 1859.

CHAPITRE II

ROLE DES FERMENTS DANS LA NATURE

Pour comprendre l'intérêt que présente la solution de cette question au point de vue auquel nous nous sommes placés, il suffit de songer un instant à l'importance du rôle joué dans l'économie générale du monde par ces infimes agents de transformation, si méconnus jusqu'à ce jour. Quelques instants de réflexion vont nous convaincre que sans eux, la vie deviendrait bientôt impossible à la surface de la terre, et qu'ils sont le contrepoids nécessaire des grands animaux et des grands végétaux.

Idée générale de la vie. — Dans un pot de terre rempli de grès calciné on sème une graine qu'on arrose régulièrement avec de l'eau distillée. Au bout de quelque temps, la graine germe, se développe et devient une plante complète, grêle, il est vrai, d'une constitution peu solide, mais munie de tous ses organes et capable même de fructifier, comme l'a montré M. Boussingault.

Elle ne peut évidemment avoir puisé que dans l'air et dans l'eau la matière organique qui la forme et dont le poids est très notablement supérieur à celui de la graine initiale. L'eau a gonflé cette graine, lui a permis de pousser ses premières feuilles. Celles-ci, à la lumière, se sont remplies de chlorophylle, et sont devenues par là capables d'emprunter son carbone à l'acide carbonique existant dans l'air. Avec ce carbone et les éléments de l'eau la plante a fait son amidon, ses huiles, sa cellulose, tous ses éléments non azotés. Quant à l'azote, elle a dû se borner à vivre aux dépens de celui qui existait dans la graine. Elle a agi de la même façon à l'égard de la matière minérale, qu'on lui a refusée et qu'elle n'a pas trouvé à emprunter au milieu où nous l'avons élevée. Mais, en somme, bien que chétive, elle vit, et pour elle la vie n'est évidemment que la mise en œuvre, l'organisation des gaz empruntés à l'atmosphère ou des éléments de l'eau.

Prenons maintenant la même plante cultivée en terrain fertile. Grâce aux matières azotées et minérales qu'elle a trouvées dans l'eau et dans le sol, elle a pu se faire des organes moins débiles, qui, dès lors, ont puisé plus vigoureusement leur nourriture dans le milieu ambiant, se sont par là fortifiés davantage, et il est résulté du jeu régulier de ces actions, concourant au même but, une plante

plus volumineuse, plus vivace, mais à laquelle nous aurons le droit d'appliquer la même conclusion que tout à l'heure, si nous remarquons que le poids total de matière organique qui la constitue est de beaucoup supérieur à celui qui existait à l'origine dans le cube de terre où elle enfonce ses racines. Elle a donc été obligée de se fabriquer des matériaux vivants, et pour cela, d'en emprunter les éléments à l'air ou à l'eau.

Toute plante nous apparaît donc comme un laboratoire de synthèse organique, consommant la force qui lui vient de l'extérieur sous la forme de chaleur solaire, et l'employant à engager des éléments, primitivement gazeux ou solubles dans l'eau, dans des combinaisons de plus en plus complexes, de plus en plus éloignées de leur forme primitive, de plus en plus combustibles. De telle sorte que nous pouvons voir dans le tapis de végétation qui couvre le sol un magasin de chaleur solaire, dépensée à donner une forme organique aux éléments de l'air et de l'eau.

Les animaux à leur tour, vivent de végétaux ou d'autres animaux qui eux-mêmes ont consommé des végétaux. Les sources de leur activité vitale sont les mêmes que tout à l'heure, et nous pouvons étendre au monde vivant tout entier les conclusions que nous venons de démontrer pour le règne végétal.

Mais une fois produite aux dépens d'éléments gazeux ou solubles, cette matière organique est devenue solide et insoluble dans l'eau. Elle est immobilisée, absolument impropre à nourrir un végétal nouveau, et si par un mécanisme quelconque, elle ne rentrait pas dans le courant général, l'atmosphère s'épuisant peu à peu de ses éléments organisables, l'eau devenant de plus en plus pauvre en produits utilisables, la continuation de la vie deviendrait bientôt impossible à la surface du globe. Il faut donc qu'à un moment donné, la mort vienne détruire ce qu'a fait la vie, et que tout ce qui a fait partie des matériaux d'un être organisé retourne après lui à l'atmosphère ou à l'eau.

Cette conception n'est pas nouvelle et a frappé beaucoup de philosophes de l'antiquité. Un de ceux qui se sont le plus imprégnés de la science de leur temps, Lucrèce, consacre le commencement du premier livre de son poème *de Natura rerum* à exposer cette doctrine de la rotation continue de la matière, qu'il rattache à l'idée de son indestructibilité. « Tout ce qui semble détruit, dit-il, ne l'est pas, car la nature refait un corps avec les débris d'un autre, et la mort seule lui vient en aide pour donner la vie (1). »

Professée pendant tout le moyen âge, et même vivement discutée, grâce à l'appui qu'y avait trouvé une doctrine philosophique d'Aristote, cette idée de la rotation continue de la matière avait été en se précisant peu à peu, au fur et à mesure que les progrès de la chimie permettaient d'en saisir mieux les détails et l'ensemble. Mais ce dont on a le droit de s'étonner, c'est de voir Lavoisier, en 1794, à une époque où l'analyse organique n'était pas encore née, où on ne sa-

(1) Haud igitur penitùs pereunt quæcumque videntur,
Quando aliud ex alio reficit natura, nec ullam
Rem gigni patitur, nisi morte adjuta alienâ.
Liv. I, vers 263.

vait rien ou presque rien sur la constitution des animaux et des végétaux, avoir de la grande loi dont nous parlons une conception aussi claire que celle qui résulte des lignes suivantes :

« Les végétaux, disait Lavoisier, dans le programme d'un prix proposé par l'Académie des sciences, puisent dans l'air qui les environne, dans l'eau et en général dans le règne minéral, les matériaux nécessaires à leur organisation.

« Les animaux se nourrissent de végétaux ou d'autres animaux qui ont été eux-mêmes nourris de végétaux, en sorte que les matériaux dont ils sont formés sont toujours, en dernier résultat, tirés de l'air et du règne minéral.

« Par quels procédés la nature opère-t-elle cette circulation entre les trois règnes? Comment parvient-elle à former des substances fermentescibles, combustibles et putrescibles avec des matériaux qui n'ont aucune de ces propriétés.

« La cause et le mode de ces phénomènes ont été jusqu'à présent entourés d'un voile presque impénétrable. On entrevoit cependant que puisque la combustion et la putréfaction sont les moyens que la nature emploie pour rendre au règne minéral les matériaux qu'elle en a tirés pour former des végétaux ou des animaux, la végétation et l'animalisation doivent être des opérations inverses de la combustion et de la putréfaction. »

Il n'est pas besoin de rappeler ici avec quelle netteté s'est vérifiée l'admirable intuition de Lavoisier. Les principaux éléments du problème qu'il posait sont aujourd'hui connus. Il a été éclairé dans son essence lorsque les progrès de l'analyse organique eurent permis de connaître la composition des animaux et des végétaux, et de dresser le bilan des échanges mutuels de leurs éléments. Les notions acquises sur ce sujet resteront gravées en traits ineffaçables dans le bel essai de statique chimique de MM. Dumas et Boussingault.

Mais le mécanisme du phénomène, la nature de l'agent qui restituait la matière organique au monde minéral est restée plus longtemps ignorée. Lavoisier, MM. Dumas et Boussingault n'avaient pu que dire : il y a fermentation, il y a putréfaction, sans savoir d'une façon exacte sous quelle influence s'accomplissaient ces phénomènes. C'est à M. Pasteur qu'on doit de les avoir éclairés, et d'avoir montré que la disparition, la minéralisation de la matière organique morte exigeait le concours d'une vie nouvelle venant s'implanter au milieu de ces matériaux laborieusement édifiés par la vie antérieure qui les animait, et employant à les détruire une portion de la force qui s'y trouve accumulée.

Une substance organique quelconque peut, en effet, produire de la chaleur en brûlant, et dès lors nous pouvons nous la représenter comme un réservoir de force, comme un corps formé avec absorption de chaleur, et l'assimiler, de loin, à un de ces corps explosifs dont nous connaissons la décomposition si facile. En partant de là, on pourrait croire que leur stabilité est faible, et qu'aussitôt abandonnés par la vie, les matériaux de l'organisme peuvent retourner facilement à l'état minéral, en mettant seulement en jeu leurs forces intérieures.

On sait pourtant que, tant qu'ils sont à l'état solide, ils paraissent résister assez bien. Un morceau de sucre peut se conserver, dans certaines conditions, indé-

finiment sous son état. Dissous dans l'eau, il paraît, au contraire, destiné à une destruction inévitable. Mais si, comme nous apprendrons à le faire plus tard, on expose à l'air de l'eau sucrée, même mélangée à une infusion altérable, comme de l'eau de levure ou du bouillon, avec la seule précaution d'éliminer toutes les productions organisées que le microscope découvre dans les liqueurs qui fermentent, ce même sucre restera inaltéré pendant de longues années, et ne subira de la part de l'air qu'une combustion lente, absolument insuffisante à entretenir la rotation continue de la matière, que nous avons reconnue nécessaire à la perpétuité de la vie à la surface du globe.

Répétons la même expérience, mais sans la précaution dont nous avons parlé pour empêcher le développement des êtres inférieurs et le trouble qu'ils amènent dans le liquide. Nous verrons, au-dessus de notre liquide, l'oxygène disparaître rapidement et être remplacé par de l'acide carbonique. Les êtres organisés qui se reproduisent dans l'infusion nous apparaissent donc comme les agents de la destruction rapide des matières privées de vie, ou plutôt, c'est une vie qui défait ce qu'a fait un autre, uniquement parce qu'elle s'alimente à des sources différentes.

La vie des grands végétaux et des grands animaux se résume, comme nous l'avons vu, dans la création, aux dépens de la chaleur solaire, de substances dont la production exige une certaine dépense de force. C'est dans ces substances endothermiques que s'implantent les êtres inférieurs. De la force qu'ils y trouvent emmagasinée, ils empruntent une portion pour la construction de leurs tissus, ce qui les rend, jusqu'à un certain point, indépendants des conditions extérieures. Une autre portion est employée à donner l'état gazeux à des substances primitivement liquides ou solides. Une autre portion enfin se transforme en chaleur sensible, et sert à élever la température du liquide où se produisent tous ces phénomènes, et par suite à en activer la marche.

Caractère ferment. — Maintenant que nous avons trouvé dans ces êtres infiniment petits le contrepoids nécessaire de la vie des grands animaux et des grands végétaux, nous sommes tout naturellement amenés à nous demander comment ils peuvent suffire à la tâche qui leur incombe. Étudions de près ce côté de la question, parce que nous allons y voir apparaître une des particularités les plus curieuses de l'existence de ces petits êtres, celle qu'on caractérise en les appelant des *ferments*. Il va nous suffire, pour nous rendre un compte précis de ce mot, de comparer la puissance de destruction de ces organismes à peine visibles à celle dont jouissent, dans la même direction, les végétaux ou les animaux.

Ce n'est, en effet, qu'en envisageant la question sous sa forme la plus générale, et en supprimant les détails particuliers, que nous avons pu voir dans les végétaux des producteurs de matière. Ils en consomment dans tout le courant de leur existence, mais en quantité inférieure à celle qu'ils produisent, et la balance est en leur faveur. Toutefois, il y a deux moments dans leur existence où la dépense dépasse le gain, c'est au moment de la germination et à celui de la floraison.

C'est pendant la germination que la dépense est la plus forte. C'est aussi à ce

moment qu'il est le plus facile de s'en faire une idée. Une graine qui germe est une plante réduite à sa forme la plus élémentaire, dans laquelle le jeune organisme vit, comme le ferait un animal, aux dépens des matériaux nutritifs amassés dans les cotylédons. Il se produit de l'acide carbonique, il y a dégagement de chaleur, et il se forme des tissus nouveaux. L'analogie avec les fermentations est bien manifeste. Mais quel est le degré d'activité du phénomène? Nous n'avons, pour en prendre une idée, qu'à emprunter quelques nombres aux excellents mémoires de M. Boussingault.

Des graines de trèfle et de froment, mises à germer sur une assiette jusqu'au moment de l'apparition des parties vertes, ont perdu environ, les unes comme les autres, les $\frac{16}{100}$ de leur poids. En admettant que cette perte corresponde à huit jours de vie active, ce qui ne peut être très éloigné de la réalité, on trouve que la graine consomme par jour $\frac{2}{100}$ environ de son poids.

Ce nombre est faible. Nous allons le voir augmenter à peine chez les animaux, qui sont, beaucoup plus régulièrement que les végétaux, des brûleurs et des destructeurs de matière. Pour avoir un terme de comparaison précis, nous choisirons d'abord un animal exclusivement carnivore, pour lequel nous pourrons comparer, sans ambages, le poids de l'animal au poids des aliments consommés par jour dans une alimentation régulière. Nous trouvons ainsi qu'un chat, un chien, consomment par jour, en moyenne, $\frac{1}{25}$ de leur poids de viande. En admettant que cette viande soit entièrement brûlée, qu'elle disparaisse complètement sous la forme d'eau, d'acide carbonique et d'ammoniaque, ce qui, comme on le sait, est loin d'être vrai, un animal comme le chien ne pourrait guère gazéifier en un jour et rendre à la nature inorganique que $\frac{1}{25}$ de son poids de matière organisée. En prenant pour terme de comparaison la ration alimentaire proposée par Payen pour l'homme, et dans laquelle entrent 1 kilogramme de pain et 286 grammes de viande, en tout 1300 grammes environ, on trouve qu'un homme du poids de 65 kilogrammes ne consomme et ne détruit par jour que $\frac{1}{50}$ de son poids de matière organique. Le chien est donc un agent de décomposition plus énergique que lui, mais il est à son tour dépassé par les oiseaux. Dans des expériences que j'ai faites, j'ai vu des pigeons consommer par jour $\frac{1}{14}$ de leur poids d'orge perlé ou de blé noir.

Passons maintenant aux infiniment petits, nous allons trouver des nombres notablement plus élevés. M. Raulin a appris à cultiver une plante microscopique, l'*Aspergillus niger*, qui, vivant à la surface d'un liquide qui contient 70 grammes de sucre, consomme ce sucre en six jours sous un poids moyen à peu près égal, c'est-à-dire, par jour, à peu près $\frac{1}{6}$ de son poids de sucre. Faisons un pas de plus et étudions le ferment alcoolique. Mis dans des conditions convenables, il peut transformer en alcool, corps incomplètement brûlé, et en acide carbonique, trois fois son poids de sucre par jour, et ce n'est pas encore l'orga-

nisme le plus actif. Le mycoderme du vinaigre le dépasse quelquefois de beaucoup. J'ai vu, dans une cuve renfermant 30 litres de liqnide à 9 p. 100 d'alcool, l'acétification devenir complète au bout de quatre jours, sous l'action d'un poids de mycoderme qui ne dépassait pas 1 gramme à l'état sec, ou 5 grammes environ à l'état vivant. La quantité d'alcool transformée étant de 2 kilogrammes environ, c'était, par jour, environ cent fois le poids de l'organisme, et il y a des cas de fermentation butyrique ou le rapport pondéral est encore plus considérable.

Nous verrons plus tard comment on peut s'expliquer cette disproportion énorme entre le poids de l'être vivant et celui de la substance sur laquelle il agit. Nous trouverons qu'elle est virtuellement inscrite dans le mot *ferment.* Pour le moment je ne veux tirer qu'une conclusion, c'est que l'*énergie destructive spécifique* des ferments, s'il m'est permis d'employer cette expression, nous apparaît comme infiniment supérieure à celle des animaux. On comprend dès lors que, malgré leur petitesse, ils puissent suffire à leur tâche; on comprend aussi comment, malgré l'importance du rôle qu'ils jouent, ils ont pu rester longtemps ignorés ou méconnus.

CHAPITRE III

NOTIONS GÉNÉRALES SUR LES FERMENTS

Le monde des infiniment petits, dont nous abordons l'étude, est tellement peuplé, et d'espèces si diverses, qu'il est indispensable, avant d'y pénétrer plus avant, d'en indiquer au moins les grandes divisions. Cela est d'autant plus nécessaire, que beaucoup de mots y ont été employés dans des sens très divers, faute d'avoir une signification bien précise, qu'un même être a reçu des appellations très différentes, et qu'on a souvent appliqué le même nom à deux êtres très loin d'être identiques.

Il n'y aurait qu'un seul remède topique à cette confusion, ce serait de posséder, au sujet de ces infiniment petits, une classification bien faite. Mais une classification bien faite suit la science, et ne la précède pas. Tant que le sujet est obscur, on ne peut tenter que des classifications provisoires, qu'on démolit au fur et à mesure de leur insuffisance, mais qui, tant qu'elles durent, rendent des services. C'est à une classification provisoire, et même très provisoire, que nous sommes obligés d'avoir recours. Elle se bornera, comme nous allons le voir, à un très petit nombre de traits et de faits généraux, et encore elle n'aura pas partout la même précision ni la même sûreté.

Ce n'est pas qu'il n'ait été fait et proposé des classifications essayant de pénétrer plus avant dans le sujet. Le naturaliste qui s'est le plus occupé de l'étude des microbes, Cohn, a fait, sous ce point de vue, les tentatives les plus heureuses, mais sans même approcher, croyons-nous, nulle part de la vérité. On ne connaît en somme, jusqu'ici, qu'un très petit nombre de faits de l'histoire d'un très petit nombre d'espèces, celles qui ont été isolées et obtenues en cultures pures. Toutes les recherches faites sur les mélanges complexes d'espèces auxquels on s'est adressé d'ordinaire, sont bonnes à jeter à la mer comme un lest inutile et encombrant, et une fois cette liquidation faite, il ne reste qu'un très petit nombre de travaux vraiment fructueux et pouvant servir de fondement à la science, mais ce n'est pas avec eux qu'on peut tenter une classification.

Nous nous bornerons dès lors à indiquer ce qu'on sait de général sur les espèces les mieux connues. Notre seul but est de donner une signification aussi précise que possible aux noms génériques que nous rencontrerons, et par là, d'éviter les redites.

Les êtres que nous aurons à étudier au point de vue de leurs propriétés phy-

siologiques, appartiennent en partie à des espèces que la botanique a déjà classées, en partie à des espèces restées encore confuses. Nous parlerons d'abord des premières, en ne donnant sur elles que les détails nécessaires à notre sujet, et renvoyant, pour le reste, aux traités *in extenso* publiés sur la matière.

Moisissures. — Nous désignerons sous le nom général de moisissures ou de mucédinées, de petits végétaux de quelques millimètres de hauteur, se développant en plaques ou en touffes diversicolores à la surface des matières organiques qui ont le contact de l'air. Ces végétaux sont formés de deux parties : un système végétatif nommé *mycélium*, et formé de tubes plus ou moins rameux, plus ou moins cloisonnés, plus ou moins feutrés et entrelacés, ou même quelquefois anastomosés, qu'ils font courir à la surface du substratum organique, ou qu'ils enfoncent dans ses replis. De ce mycélium partent, de distance en distance, quelquefois très serrées, quelquefois très espacées, des colonnettes grêles s'élevant dans l'air et portant l'élément reproducteur, ou plutôt l'un des éléments reproducteurs du végétal, la spore asexuée.

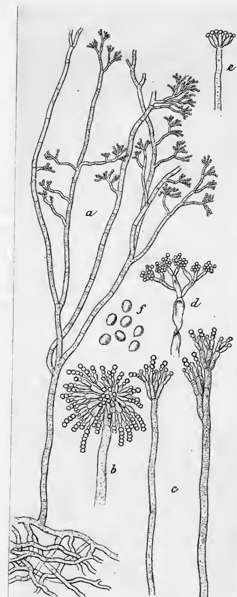
Les filaments mycéliens diffèrent d'un végétal à l'autre par leur largeur, la nature de leur contenu, la distance des cloisonnements, leur état plus ou moins rameux, etc. Mais ces caractères sont peu nets et ne permettraient pas de reconnaître les espèces. On trouve, en revanche, pour cela, des éléments précieux dans l'étude du filament fertile ou sporifère.

Une espèce tellement fréquente à la surface du globe qu'elle est peut-être la plus universellement répandue, le *penicillium glaucum*, forme à la surface des fruits acides, du pain moisi, des confitures, des bois des caves, ces touffes bleuâtres que tout le monde connaît. Le filament sporifère est, en général, rameux ; chaque rameau (fig. 2) porte à son extrémité deux, trois, quatre rameaux plus petits, plus ou moins serrés les uns contre les autres, et dont chacun est couronné à son tour d'un bouquet de trois ou quatre ramuscules appelés *basides*. L'extrémité de la baside s'arrondit, et s'étrangle ensuite de façon à se charger ainsi d'une petite sphérule qui est la spore. Puis la même opération recommence un grand nombre de fois, et la baside sert ainsi de base à un chapelet de spores dont les dernières venues sont les plus éloignées de l'extrémité libre.

Dans une autre espèce que nous rencontrerons aussi fréquemment, l'*Aspergillus*, chacun des filaments sporifères se renfle en sphère à son sommet, et sur la moitié supérieure de la sphère se développent, dirigées suivant des rayons, et quelquefois étroitement serrées les unes contre les autres, un grand nombre de protubérances coniques que l'on a appelées *stérigmates*, on ne voit pas trop pourquoi, parce que ce sont encore des basides produisant, comme dans les pénicilliums, et par un mécanisme analogue, des chapelets de spores.

Dans ces deux espèces, la formation des spores résulte donc d'une bipartition de la baside, et est exogène. Elles font partie du groupe des *basidiosporés*. Dans un autre groupe, celui des *ascosporés*, les spores ont une origine toute différente; elles se forment et se développent en plus ou moins grand nombre aux dépens du protoplasma de la cellule terminale renflée d'un filament sporifère. Elles sont donc endogènes. La cellule qui les produit porte le nom d'*asque* ou *sporange*, et se détruit quand elle a mûri et vidé son contenu.

A ce groupe appartient une famille que nous aurons à étudier, celle des *mucors*. L'extrémité du filament fertile se renfle en sphère, se remplit de proto-



En *a*, port' général d'un filament fertile ameox, sortant d'un mycélium rameux, mais non anastomosé : grossissement 30.

En *b*, filament fertile, très chargé de bouquets de spores, portés tous par des pédoncules insérés au nombre do trois ou quatre à l'extrémité des basides du filament sporifère.

En *c*, en *d* et en *e*, diverses terminaisons de filaments fertiles; grossissement 50.

En *f*, spores mûres, grossies 500 fois.

Fig. 2. — *Penicillium glaucum.*

plasma, et se sépare tout d'abord du reste du tube par une cloison transverse. Puis, à mesure que la sphère continue à grossir, cette cloison se développe en

forme de voûte à l'intérieur du sporange, et c'est entre cette cloison voûtée et la paroi externe que se forment les spores.

Dans tous les modes de fructification que nous venons de passer en revue, la spore formée est produite aux dépens d'un seul élément cellulaire : elle est asexuée. Mais les mêmes végétaux peuvent présenter aussi des formes sexuées dont il est important de dire un mot.

Certains mucors, après avoir donné naissance au système de sporanges que nous venons de décrire, créent sur différents points de leur mycélium, des spores d'origine double, résultant de la pénétration réciproque et de la fusion de deux masses protoplasmiques distinctes, et qu'on appelle des *oospores*.

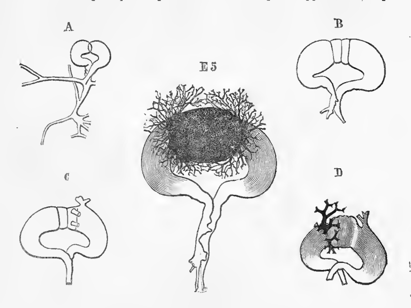


Fig. 3. — *Conjugaison du phytomyces nitens*, d'après Van Tieghem et Le Monnier.

A. Les deux filaments renflés et arqués en mors de pince sont venus au contact, par leur partie inférieure et leur sommet (Grossissement 40). — B. Chacun d'eux a donné une cellule discoïde où se condense le protoplasma (G^t 40). — C. Les corps protoplasmiques ont fusionné, et des épines dichotomes ont apparu sur l'un des filaments (G^t 40). — D. L'oogone ou zygospore est en voie de développement, et la première épine apparait sur l'autre filament (G^t 40). — E. Zygospore achevée, enveloppée d'épines noires (G^t 50).

Deux filaments mycéliens viennent au contact et serrent l'un contre l'autre leurs extrémités renflées (fig. 3). A droite et à gauche de la surface de contact s'organise une cellule nouvelle, puis cette surface de contact se résorbe, et les deux cellules fondent leur contenu en une masse unique qui grossit beaucoup, se revêt d'une épaisse membrane. C'est, comme on voit, une sorte d'œuf. Cette oospore peut germer, mais seulement lorsqu'elle a été desséchée, et après un certain temps de repos. Placée alors dans une atmosphère humide, elle donne naissance directement, sans former de mycélium, à un système de sporanges tout pareil à celui que nous avons décrit tout à l'heure, et dans ceux-ci se trouvent des spores asexuées qui, ensemencées à leur tour, ramènent au mycélium qui a été notre point de départ.

On retrouve chez les aspergillus ces spores sexuées. Une branche mycélienne s'enroule en tire-bouchon, puis de la spire inférieure s'échappent deux branches minces qui s'accroissent en longeant la face externe du tire-bouchon, que l'on appelle *l'ascogone* (fig. 4). L'une d'elles croît plus rapidement que l'autre, atteint la première le sommet de l'ascogone et y applique intimement sa pointe

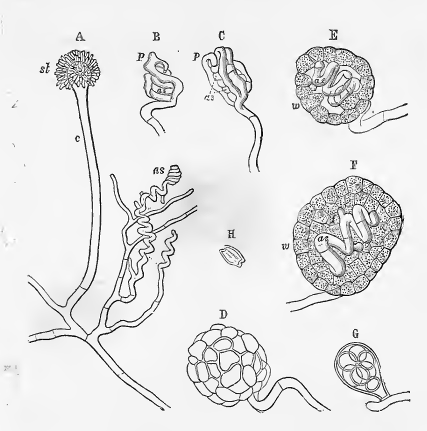


Fig. 4. — *Développement de l'Eurotium repens*, d'après M. de Bary.

A, petite partie d'un mycélium avec un réceptacle conidifère *c*, et de jeunes ascogones *as*. — B, l'ascogone *as* enroulé en hélice, avec le pollinode *p*. — C, le même, commençant à être entouré par des filaments dont l'ensemble constituera la paroi du périthèce. — D, un périthèce vu du dehors. — E et F, jeunes périthèces en section longitudinale; *w*, cellules pariétales; *f*, tissu de remplissage; *as*, l'ascogone. — G un asque. — H une ascospore mûre.

que M. de Bary a appelé *pollinode*. Entre le pollinode et l'ascogone s'opère une conjugaison, par résorption des membranes de séparation, et fusion des contenus protoplasmiques. Cet ascogone se segmente alors en articles qui se mettenti pousser, et donnent des asques remplis de spores, dont la forme, quand elles sont mûres, est en général très différente de celle des spores exogènes que nous connaissons déjà. Celles-ci sont sexuées, endogènes, et bien qu'appartenant à un basidiosporé, ont pris naissance dans un asque. Ceci

nous démontre en passant combien les qualifications et les classifications sont dangereuses quand elles sont prématurées.

Dans le pénicillium, d'après M. Brefeld, on trouve aussi des nodules ascophores, de sorte que pour ces trois espèces, outre la reproduction asexuée, qui est, il est vrai, la plus fréquente et celle à laquelle nous aurons le plus souvent affaire, existe aussi une reproduction sexuée. Mais ce n'est pas tout. Le mucor, au moins, peut donner naissance, dans son mycélium, à une nouvelle espèce de spores qui naissent à l'intérieur de la membrane mycélienne par une condensation locale et une transformation du protoplasma. Ce sont les *chlamydospores*. Tantôt ces chlamydospores naissent sur le mycélium, à l'intérieur du liquide nutritif, ou bien dans les filaments aériens, mais en restant à l'intérieur du filament, enveloppées par sa membrane, et mises en liberté par sa destruction. Tantôt elles poussent au sommet de pédicelles que le mucor dresse dans l'air, et qui, simples ou rameux, se terminent chacun par une grosse spore endogène à membrane épaissie, et hérissée quelquefois, comme dans le *mortierella*, de pointes ou de tubercules.

On voit la variété de moyens de reproduction que mett nt en jeu ces végétaux inférieurs. Mais le plus puissant et le plus rapide se fait par les spores asexuées décrites en premier lieu. Un simple pied de pénicillium peut porter de 8 à 10 000 germes, et certains sporanges de mucor renferment jusqu'à 50 000 spores. C'est là un fait dont nous aurons à nous souvenir plus tard.

Levures, mycodermes, torulas. — On rapproche d'ordinaire du groupe des ascosporés de petits végétaux cellulaires qui n'ont, au premier abord, qu'une ressemblance très éloignée avec ceux que nous venons de décrire. Ce sont de petites cellules arrondies ou oblongues vivant à la surface ou dans la profondeur des liquides, et qui se reproduisent par bourgeonnement. En un point de la cellule on voit naître une petite tumeur qui grandit, arrive à la grosseur du globule-mère, y reste quelquefois attachée par une surface qui devient de plus en plus étroite, s'en détache quelquefois pour commencer une vie indépendante et proliférer à son tour. Lorsque les globules restent unis, leurs générations successives s'allongent ou se ramifient en chapelets quelquefois très rameux. On voit que ces plantes n'ont ni mycélium, ni organes de fructification distincts. Elles ne pourraient donc être rapprochées des ascosporés, si pour quelques-unes d'entre elles, les levures, on ne connaissait, depuis Reess, une forme ascoporée. Quand la nourriture est précaire, quand, par exemple, on transporte de la levure sur des tranches de pomme de terre, de rave ou de carott , ou bien encore, quand, avec M. Engel, on l'étale sur une plaque de plâtre qu'on conserve presque immergée dans l'eau, dans un air humide et à une température convenable, on voit certaines cellules s'accroître de volume, et leur protoplasma se condenser en 2, 3 ou 4 spores arrondies qui reportées dans un liquide sucré fermentescible, reproduisent, par bourgeonnement, de nouvelles cellules de levure.

Les levures ne peuvent, à leur tour, être séparées d'autres végétaux cellulaires aussi, auxquels elles ressemblent tellement pour la forme et le mode

de prolifération par gemmation, qu'au microscope on est toujours exposé à les confondre. Mais ces autres végétaux ne produisent pas la fermentation alcoolique des moûts sucrés. Les uns vivent à la surface des liquides et y forment des pellicules plus ou moins épaisses, plus ou moins plissées, ayant le toucher gras et se laissant difficilement mouiller par le liquide. Nous les appellerons *mycodermes*. D'autres vivent dans les profondeurs du liquide, comme les levures, mais sans produire de traces sensibles d'alcool. Nous les désignerons sous le nom de *torulacées*. Persoon, qui a créé le genre torula, lui donnait la diagnose suivante : spores réunies en chapelets se séparant ensuite. Nous restons d'accord avec ces caractères.

Il faut pourtant dire qu'en établissant cette division en levures, mycodermes et torulas, nous ne croyons en aucune façon établir des familles naturelles. Nous verrons dans le courant de ce livre que certaines levures se développent comme les mycodermes à la surface des liquides, que certaines torulacées peuvent vivre en mycodermes ou devenir des levures. Comme nous le disions plus haut, le moment n'est pas venu d'asseoir une classification. Mais toute science, pour se faire, a besoin d'un langage, fût-ce un langage de convention. Le nôtre n'est ni tout à fait de convention, ni tout à fait naturel, et nous sera souvent utile.

Micrococcus. — En descendant d'un degré dans l'échelle des grandeurs, nous trouvons des espèces formées de petits granules ronds, immobiles, souvent isolés, plus souvent associés par groupes de deux, fréquemment réunis en longs chapelets. Ces chapelets se distinguent de ceux des levures en ce qu'ils ne forment pas des flocons, ils ne sont pas rameux. Tous les globules sont en files, et ont la même grosseur, ou des grosseurs très voisines. Ces formes s'expliquent tout naturellement par le mode de reproduction, qui se fait, non plus par bourgeonnement, mais par segmentation transversale. Chacun de ces granules s'allonge légèrement, puis s'étrangle en son milieu, et se divise en deux granules qui s'accroissent, en restant unis, jusqu'à ce qu'ils soient revenus à la grosseur initiale.

On ne connaît pas encore pour eux d'autre mode de prolifération. Comme les mycodermes les micrococcus peuvent vivre à la surface des liquides, ou dans la profondeur comme les levures. Mais leur forme générale et leur façon de se reproduire obligent de leur faire une place à part.

Tous les êtres que nous venons de passer en revue n'ont de mouvements propres à aucune période de leur existence. Nous allons en trouver maintenant qui peuvent être mobiles au moins pendant une période de leur vie, quelquefois pendant la totalité. A prendre les choses en gros, on pourrait appeler les premiers des végétaux, les seconds des animaux. Mais ce serait préjuger la solution d'une question qu'il vaut mieux ne pas essayer de résoudre. C'est bien à tort que beaucoup de personnes se préoccupent de savoir à quel règne, végétal ou animal, elles doivent attribuer les espèces qui leur passent sous les yeux. Dans le monde des infiniment petits, ces deux règnes se fondent encore plus intimement qu'ailleurs l'un dans l'autre, et il y a sur leurs limites communes une zone indécise qu'il sera toujours très imprudent d'attribuer à l'un ou à l'autre, parce

que toutes les lignes qu'on pourra y tracer n'auront jamais la souplesse nécessaire pour être d'accord avec la nature.

Monades. — Dans la plupart des infusions, surtout celles qui sont naturellement ou sont devenues neutres ou un peu alcalines, on voit nager en foules des corpuscules ténus, de forme arrondie, plus ou moins gros, dont quelques-uns peuvent atteindre les dimensions d'un globule de levure, dont les autres sont tellement petits qu'ils en sont presque invisibles, mais qui sont tous munis, à leur avant, d'un ou de plusieurs cils vibratiles. Ces cils sont leurs organes moteurs, et leur permettent de s'avancer avec rapidité, et d'un mouvement saccadé et tremblotant. Ces êtres sont confondus sous le nom de *monades.*

Il en existe certainement un grand nombre d'espèces, dont quelques-unes seulement nous sont bien connues, grâce aux patientes observations de MM. Dallinger et Drysdale. Pour donner une idée du mode de reproduction chez ces êtres, je résumerai rapidement l'histoire de l'un des plus curieux, de celui que MM. Dallinger et Drysdale ont nommé la *monade calycine.*

C'est, comme le montre la figure 5, une espèce de cornet plein, aplati latéralement, terminé d'un côté par une pointe effilée, de l'autre par une surface presque plane, sur laquelle un petit mamelon porte quatre petites proéminences munies chacune d'un cil vibratile, nommé *flagelle.* Dans le tissu sarcodique de la monade, on distingue une masse nucléolaire allongée et deux cavités, portant chacune une cloison médiane. Ces cavités se contractent et se rouvrent avec des mouvements tout à fait rythmiques. On en rencontre de pareilles dans un grand nombre d'espèces, et on ne comprend vraiment pas pourquoi beaucoup de micrographes s'obstinent à ne pas y voir un cœur. Les mouvements de la monade sont extrêmement vifs et en même temps très gracieux. Elles glissent en foules dans le liquide sans qu'il y ait jamais entre elles la moindre collision. Leur dimension varie entre 25 et 30 millièmes de millimètre.

Cette monade peut se reproduire par scissiparité, et ce n'est pas un spectacle sans intérêt que de voir comment un être, en somme, aussi complexe, chez lequel existe une différentiation de tissus aussi marquée, peut donner par segmentation deux êtres qui lui sont tout pareils.

Il commence par s'arrondir à sa partie postérieure (fig. 5). Puis la masse sarcodique, devenue comme molle et plastique, pousse des prolongements dans divers sens. Le corps nucléolaire se développe beaucoup, et semble s'entourer d'une auréole. On voit ensuite le mamelon qui porte les flagelles se diviser, et une sorte de mouvement interne de la masse sarcodique en pousse les deux moitiés dans deux sens opposés dans le sens marqué par les petites flèches, de façon que l'intervalle entre les deux paires de flagelles s'accroît de plus en plus. En même temps, le nucléus commence à se diviser, et le double procès de segmentation continue dans la même direction. On voit apparaître ensuite des traces de division du côté opposé aux flagelles, et il y a alors comme deux infusoires ayant bientôt chacun un nucléus, et faisant effort dans deux sens opposés, de sorte qu'ils finissent par n'être plus attachés l'un à l'autre que par un ligament unissant leurs parties effilées. Les cœurs qui avaient disparu par contraction dès l'origine font à ce moment leur apparition et les infusoires

finissent par se séparer complétement. Le temps employé à l'opération peut aller jusqu'à cinquante minutes, mais il y a des espèces où il est plus rapide. Une *cercomonade* étudiée par les mêmes savants subit ou exécute en cinq ou six minutes sa division complète.

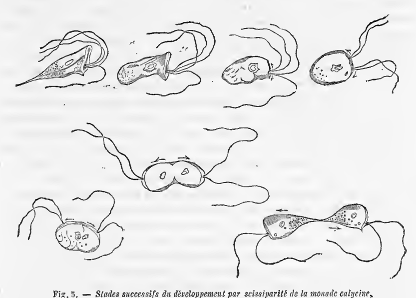


Fig. 5. — *Stades successifs du développement par scissiparité de la monade calycine*, d'après MM. Dallinger et Drysdale.

Tout n'est pas terminé pour notre calycine. Les deux monades formées sont complètes dans leur intérieur, mais n'ont chacune que deux cils. Pour se compléter, on les voit s'arrêter, fixer contre un obstacle, le fond du vase par exemple, les extrémités libres de leurs flagelles, et leur imprimer un mouvement vibratoire très rapide sur toute leur longueur. Les deux extrémités du fil se fendent au bout de quelques instants, et la coupure s'avance peu à peu jusqu'à leur base. Le tout ne demande que cent trente secondes, depuis le moment où la monade a fixé les extrémités de ses flagelles.

Voilà un premier mode de reproduction qui est asexuel. En voici un autre, moins fréquent il est vrai, mais qui a quelque chose de sexuel, et qui diffère, en tout cas, totalement de celui qui précède.

Le phénomène est annoncé comme tout à l'heure par l'aspect mou, plastique, demi-amiboïde que prend l'extrémité postérieure. La masse nucléolaire s'accroît seulement beaucoup plus, et les cœurs sont dans un mouvement rythmique très rapide. Au bout de deux ou trois heures, la partie postérieure de la monade est devenue tout à fait amiboïde, et émet de nombreux et gros prolongements dont les mouvements sont plus constants et plus rapides qu'ils ne le sont chez les amibes (fig. 6). Dans cet état, la monade continue à nager plusieurs heures, mais de plus en plus lentement, puis elle reste immobile. Elle semble à ce moment avoir une grande voracité. Elle *éclaircit* rapidement tout le champ qui l'environne, en absorbant les bactéries vivantes et mortes qu'elle y rencontre, et cela

explique l'augmentation notable de son volume. Puis, à un moment donné, les mouvements qu'elle se donne encore, soit en nageant, soit en rampant au moyen de ses prolongements amiboïdes, l'amènent au contact d'une autre monade dans le même état qu'elle. Immédiatement les parties amiboïdes se fondent ensemble, et les deux êtres se mettent à nager de conserve; puis la fusion se

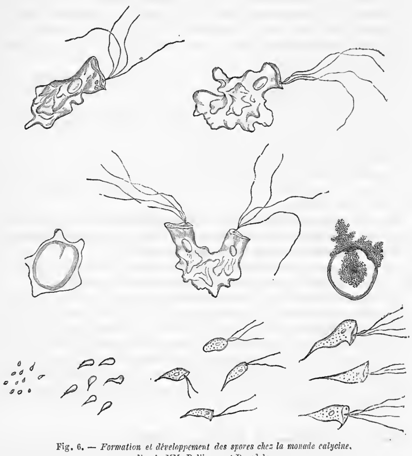


Fig. 6. — *Formation et développement des spores chez la monade calycine*, d'après MM. Dallinger et Drysdale.

En haut, monades devenant amiboïdes par leur partie postérieure. En dessous, au milieu, fusion de deux monades amiboïdes. A gauche, isolement de l'œuf par résorption du tissu environnant. A droite, œuf laissant échapper les séminules. Au dessous, stades successifs du développement des séminules, jusqu'au retour à la forme initiale.

continue, les cœurs se contractent et disparaissent, les deux nucléus s'unissent, et, au bout de 18 heures, tout est tellement confondu et unifié qu'on n'a plus sous les yeux qu'une sorte de sac irrégulier. Au bout de 6 nouvelles heures, ce sac est devenu rond, et lance dans toutes les directions d'innombrables petits corpuscules ovales très réfringents. Ces corpuscules au bout de 2 ou 3 heures apparaissent un peu allongés, grossissent alors rapidement et, 2 heures après, ont pris un peu de la forme de la monade initiale. Une heure après, ils

se sont munis de cils au nombre de 2 ou de 3. Leurs mouvements s'accélèrent alors et, 35 minutes après l'apparition des cils, on constate celle du nucléus. Enfin, 9 heures après leur émission à l'état de poussière presque invisible, ils ressemblent tout à fait à la calycine initiale.

Nous connaissons donc ainsi le cycle vital complet de la monade. Elle naît d'un germe ou spore d'une infinie petitesse, acquiert, quand elle est arrivée à l'âge adulte, la faculté de se multiplier par scissiparité, et cette faculté peut persister pendant une longue série de générations, mais, à un certain moment, cette reproduction asexuelle cède la place à une sorte d'union sexuelle qui renouvelle le pouvoir vital dans la série des êtres.

MM. Dallinger et Drysdale ont retrouvé ce double mode de génération dans toutes les monades qu'ils ont étudiées.

Une cercomonade, une autre monade qu'ils ont appelée monade-ressort (*springing monad*), à cause du mouvement de projection qu'elle se donne quelquefois au moyen d'un de ses flagelles, possède, comme la calycine, la reproduction par scissiparité et par spores.

Une monade, dite à crochet (*hooked monad*), se reproduit par scissiparité, et la reproduction sexuelle fournit non des spores, mais des êtres vivants semblables aux parents.

Une autre monade, dite uniflagellée, se reproduit avec rapidité, non pas seulement par scissiparité, mais par fissiparité multiple, chaque scission donnant de 50 à 60 êtres nouveaux. Elle donne aussi des spores.

Une autre monade, dite biflagellée, possède aussi la fissiparité multiple, la reproduction par spores, et une sorte de parthénogénèse spéciale.

Nous sommes entrés dans d'assez grands détails au sujet des monades parce que nous ne rencontrerons plus guère, dans la série de nos études, cette sorte d'êtres dont la physiologie est peu connue, et dont la morphologie et les modes de reproduction ne le sont guère que par les travaux de MM. Dallinger et Drysdale. On voit combien sont curieux les faits que ces savants ont découverts. Mais ce n'est pas là leur seul intérêt pour nous. Ils vont nous servir à trouver des points de ressemblance entre les monades et les autres êtres que nous allons rencontrer maintenant.

Bactéries, bacillus et vibrions. — Tous ces êtres se présentent sous la forme de bâtonnets ou de fils plus ou moins longs, dans lesquels, lorsqu'ils sont à l'état adulte, on ne rencontre d'ordinaire aucune différentiation de tissus. Ils se reproduisent alors par scissiparité. Un article s'allonge, se munit en un de ses points d'une cloison transverse, et voilà constitués deux êtres chez lesquels le même mode de reproduction se continue avec une rapidité très grande, de sorte qu'en quelques heures, si les conditions sont favorables, le liquide est rempli de microbes à tous les degrés d'évolution.

Cette forme de prolifération n'est pas indéfinie. A un certain moment on voit les segmentations et les contours s'accuser davantage. Le contenu du bâtonnet se trouble, son protoplasma se condense quelquefois en granulations très fines. Puis apparaît une masse plus brillante que le reste, formée sans doute d'une accumulation du protoplasma, qui semble se réunir tout entier

en un point. Le petit cylindre qui formait le corps de l'adulte prend alors des contours de plus en plus indistincts, et finit par disparaître totalement par résorption. Il ne reste que la petite masse formée dans son intérieur, qui se présente avec une forme ovale ou ronde mal définie, à cause des débris de cellules qui en garnissent les extrémités opposées. Son petit diamètre est quelquefois celui du bâtonnet initial, quelquefois plus grand, quelquefois aussi plus petit. La comparaison est, du reste, difficile à faire. La spore n'a pas les contours nets et fins du bâtonnet. Elle est faite d'une matière dont l'indice de réfraction est très différent de celui de l'eau, de sorte qu'elle ressemble à une goutte de matière grasse, avec des bords épais, noirs et toujours un peu indécis.

Cette formation de spores survient plus ou moins vite. Si le milieu n'est pas favorable à la vie de l'être, les premiers microbes développés consomment rapidement tout ce qu'il y a de nutritif pour eux, et prennent ensuite la forme de spores. Si le milieu est, au contraire, très favorable, la multiplication des adultes est très active, la nourriture, si abondante qu'elle soit, est bientôt épuisée, et la formation de spores est encore très prompte. Il n'y a de différence avec ce qui se passait tout à l'heure que dans le nombre des bâtonnets ou des spores, beaucoup plus grand ici que dans le cas précédent.

A quoi est due cette apparition des spores? En règle générale, on les voit naître toutes les fois que les conditions deviennent défavorables à la vie de l'être, pourvu qu'elles le deviennent assez lentement pour que le microbe ait le temps de s'organiser pour la résistance, en prenant la forme de spores. Tel est le cas, par exemple, dans les liquides les plus nutritifs, quand la succession d'un certain nombre de générations du même être y a introduit assez de matériaux de désassimilation pour rendre la vie difficile à des générations nouvelles. Tout être, en effet, par suite même de son procès vital, tend à se créer un milieu impropre à son existence, et change alors son mode d'évolution en passant par la spore. Mais il peut se faire aussi que ce soit là un stade nécessaire de la vie de l'être, comme l'est, chez tous les microbes que nous connaissons bien, le mode de reproduction faisant entrer en jeu des éléments sexuels, ou au moins la fusion d'éléments de nature diverse. Des deux modes de reproduction des bactéries et vibrions, par scissiparité ou par spores, c'est évidemment le dernier qui est le plus nettement sexuel.

Quoi qu'il en soit, cette spore, inerte en apparence, est douée de la vie. Introduite dans un nouveau milieu convenable, elle se développe en nouveaux bâtonnets. Le phénomène est curieux à suivre. Quelquefois on voit la spore devenir de plus en plus pâle, et prendre, au moins par places, comme un contour plus fin. Puis elle grossit en présentant deux pôles plus noirs, entre lesquels on voit apparaître un peu plus tard un renflement qui grossit, s'allonge en dehors de la spore, conserve quelque temps avec elle une liaison gélatineuse qu'il cherche évidemment à rompre, en se donnant pour cela des mouvements qu'il communique à la spore, et finit par s'en séparer en la laissant derrière lui, comme une sorte de coque vide dont les parois épaisses se sont de nouveau rejointes.

D'autres fois la spore, après avoir grossi, prend un double contour, et s'anime

d'un mouvement tremblotant. Puis le double contour disparaît en un point, par lequel on voit, faisant hernie, la masse limitée par le contour intérieur. Par l'ouverture qui s'agrandit, sort un article jeune qui prend sa forme allongée, se segmente même quelquefois, avant de se détacher de la spore, qui reste avec sa grosseur et son aspect normal.

D'après Koch, les spores de la bactéridie charbonneuse, placées dans du sérum ou de l'humeur aqueuse, commencent par s'entourer d'une masse gélatineuse qui en double à peu près le diamètre. Puis, cette masse s'allonge d'un côté seulement, devient un ovoïde dont la spore occupe un des pôles, et s'étire en un filament pendant que la spore pâlit, se disloque et disparaît. On n'a plus alors devant soi qu'un bâtonnet qui se reproduit désormais par allongement et segmentation transversale. Ce mode de prolifération diffère beaucoup de ceux que nous venons d'apprendre à connaître, et sous ce mot unique de spore peuvent se cacher des organisations très diverses.

On voit cependant, en somme, que la spore joue ici le même rôle que dans les monades. Nous trouverons bientôt de nouvelles raisons d'identifier ces formations dans les deux catégories d'êtres, et la suite de ce livre montrera quelle importance a prise, au point de vue physiologique, cette forme sporique, dont la relation avec l'être vivant correspondant a été pour la première fois signalée par M. Pasteur, en 1869, dans son livre sur la maladie des vers à soie.

Nous venons de passer en revue tout ce qu'on sait de général dans l'histoire de ces petits êtres, plus intéressants pour nous que ne le sont les monades, parce que c'est à leur monde qu'appartiennent les ferments les mieux connus. Leur importance physiologique a fait qu'on a essayé bien souvent de les classer. Mais, d'un autre côté, la ressemblance de leurs formes, l'homogénéité de leur contenu, l'absence de tous caractères morphologiques précis,rendent cette classification difficile ou même impossible. Leur longeur à l'état d'articles est très variable. Ils peuvent se former en fils allongés où les cloisons sont très rares, ou bien présenter des segmentations si rapprochées qu'ils sont à peine plus longs que larges. Entre ces extrêmes, il y a toutes les transitions. Il faut donc renoncer à la longueur de l'article comme moyen distinctif. Sa largeur est plus constante, mais nous verrons qu'elle est variable aussi, suivant les conditions de milieu, chez quelques-uns des êtres que nous connaissons bien. Il y a plus. Dans un même liquide et avec le même être, la largeur n'est pas toujours constante, à cause des déformations, des renflements que le bâtonnet présente quelquefois.

La mobilité ou l'immobilité ont servi aussi de moyen de diagnose. Mais, là encore, la variabilité est très grande. Une même espèce, nous le verrons, peut être mobile dans certaines conditions d'existence et dans certains liquides, immobile dans d'autres. Elle est très souvent mobile dans sa jeunesse, immobile à un âge plus avancé. Elle peut être mobile quand elle est en articles isolés et courts, elle devient immobile quand elle s'allonge en fils. Enfin, deux espèces évidemment très voisines, ayant la même forme, les mêmes besoins alimentaires, et donnant naissance à des produits similaires, peuvent être, l'une mobile, l'autre immobile; nous en verrons des exemples à propos des ferments de la caséine.

Le caractère granuleux ou homogène du contenu est tout aussi incertain. Une espèce, homogène quand elle est jeune ou cultivée dans certains liquides, peut devenir granuleuse quand elle vieillit, ou dans d'autres conditions d'existence. La forme et les dimensions des spores donneraient des moyens de distinction plus sûrs, si elles n'étaient pas aussi difficiles à préciser chez des corpuscules aussi ténus.

En résumé, toute classification fondée sur des caractères purement morphologiques semble impossible. Il ne faut pas moins que l'histoire physiologique tout entière de ces êtres pour permettre de les distinguer. C'est dire que la classification ne viendra que quand la science sera faite, et l'on voit combien ont fait fausse route ceux qui, appliquant aveuglément ici les procédés qui réussissent dans l'histoire naturelle des êtres supérieurs, ont voulu tracer des divisions d'après la forme, dans un monde où la forme n'a plus aucune signification.

En présence de cette porte fermée, il n'y a qu'un parti à prendre, et c'est celui que nous suivrons dans ce livre. C'est de faire une série de monographies, et de ne rapprocher que les êtres entre lesquels ces monographies signaleront des rapports étroits.

La première préoccupation, quand il s'agira d'étudier une espèce, sera de rechercher les moyens de l'obtenir pure, débarrassée de toutes les autres. Cela exigera des tâtonnements que l'expérience apprendra à rendre de moins en moins nombreux. Quand on sera arrivé à ce résultat, on sera déjà en possession de quelques éléments importants de la physiologie de l'être, on connaîtra ses formes et leurs variations, ses relations avec l'air, sa température de prédilection, la réaction chimique des milieux qu'il affectionne, la nature chimique des aliments qu'il recherche. Cette étude de l'alimentation sera très utile à faire de près. Il y aura à rechercher si l'être est surtout un ferment des matières azotées ou des matières hydrocarbonées, et, parmi ces dernières, s'il préfère les sucres, l'amidon ou les acides organiques. Quelquefois le microbe exigera un aliment à l'exclusion de tous les autres; d'autres fois, il pourra en assimiler plusieurs. Tout cela fournira de très précieux moyens de classification.

La nature de l'aliment ou des aliments une fois connue, il faudra aborder l'étude des transformations que l'être y amène, des gaz qui sont le résultat de son action, du terme de décomposition auquel il s'arrête. Avec tous ces caractères d'ordre physiologique, avec les caractères morphologiques qu'aura fournis l'observation microscopique, on pourra tracer de l'être une diagnose qui serve à le reconnaître. Sans doute, l'identification d'une espèce inconnue à une espèce connue exigera, avec cette méthode, un travail beaucoup plus long que celui de deux êtres supérieurs. J'ai rencontré des cas où il n'a pas fallu moins d'un mois pour cela. Mais il n'y a pas d'autre méthode. Il vaut en tout cas beaucoup mieux marcher lentement et sûrement que de se précipiter dans la confusion et le désordre, comme le font quelques savants qui écrivent avec impétuosité sur ces délicates questions. Pour donner une idée de l'incertitude qui en résulte, je dirai que la qualification de *bacillus subtilis* a été donnée déjà à une dizaine d'êtres, tous identiques si on ne consulte que leur nom, tous différents si on ne consulte que les propriétés qui leur sont attribuées dans les divers mémoires qui en parlent.

Cependant, comme, en attendant que la science soit faite, il faut qu'elle se donne une langue, et que dans l'usage courant on applique déjà, au monde d'êtres dont nous parlons, des noms divers, tels que ceux de bactéries, de bacillus, de vibrions, il est utile de dire quel sens général nous attribuerons à ces expressions, qu'il vaut mieux ne pas employer indifféremment les unes pour les autres.

Nous reviendrons en quelque sorte à la classification proposée par Ehrenberg en 1838, en séparant les êtres qui dans toute leur existence et dans toutes leurs évolutions se montrent toujours comme des filaments droits, raides, peu flexibles, de ceux qui dans leurs mouvements se montrent onduleux.

Nous appellerons les premiers *bactéries* quand ils seront très petits, et tellement fins que leurs bords, même aux plus forts grossissements, seront très peu distincts l'un de l'autre. Nous donnerons le nom de *bacillus* aux plus gros de ces êtres. Il est évident qu'en apparence, cette distinction est peu fondée. Son seul avantage est de réserver le nom de bactéries aux êtres très divers auxquels il a été appliqué tout d'abord, et de distinguer, dans les espèces plus grosses, les filaments raides de ceux qui se meuvent à la façon des serpents.

A ces derniers, nous réserverons le nom de *vibrions* qui est très expressif; il est d'ailleurs consacré par l'usage qu'en a fait Ehrenberg. Nous accepterons aussi le nom de *spirillum*, qu'il a donné aux vibrions pouvant se contourner en spirale, et qui se meuvent en tournant autour de l'axe de la spirale dans deux sens différents, suivant qu'ils vont de l'avant ou de l'arrière. Quelques spirillums conservent une rigidité très grande dans ce mouvement, qui rappelle celui d'un tire-bouchon entrant dans du liège. D'autres peuvent se courber un peu et devenir flexueux. Ehrenberg avait appelé ces derniers *spirochæta*. Nous croyons avec Dujardin que l'on peut les confondre avec les autres.

Nous n'avons pas besoin pour le moment d'autres renseignements et d'autres mots pour commencer notre étude. Mais il nous reste un point à élucider. Nous venons de trouver, chez nos microbes, des modes de reproduction présentant à la fois des ressemblances, et des différences qui permettent de les distinguer et de les partager en deux groupes, le mode par scissiparité et le mode par spores. Quel est, avec ces deux modes principaux, leur puissance de multiplication.

Vitesse de reproduction des microbes. — Nous avons vu plus haut un seul pied de pénicillium porter de 8 à 10 000 germes, un sporange de mucor renfermer quelquefois 50 à 60 000 spores. Nous apprendrons à produire un aspergillus, l'aspergillus niger, dont chaque filament fructifère porte à son sommet un bouquet de spores, visible à l'œil nu, et ayant plus de 1 millimètre cube de volume. Chaque spore ayant entre 3 et 4 millièmes de millimètre de diamètre, il y a plus de 30 000 spores dans le bouquet, et le filament sporifère est mûr 3 jours après l'ensemencement. Une spore unique pourrait donc donner, après 6 jours, près d'un milliard de spores nouvelles, et il s'agit ici d'un végétal complexe, ayant des organes végétatifs et un organe de fructification. Le mode de reproduction par asques est moins connu et semble un peu moins actif que le précédent.

Chez les levures et les mycodermes, où chaque cellule est complète, et porte

en elle l'*être* et le *devenir*, la vitesse de reproduction n'est pas moins grande. Nous verrons un mycoderme, celui du vinaigre, tellement petit qu'il en faut 300 000 cellules pour occuper un millimètre carré de surface, recouvrir en quelques heures la surface d'une cuve sur laquelle on n'en a semé que des traces invisibles.

Pour les levures, M. Pasteur a suivi une fois, sous le microscope, le développement d'un globule portant un bourgeon qu'il a vu arriver sous ses yeux à la grosseur du globule-mère. A partir de ce moment les deux globules se sont mis à proliférer, et malgré la température qui n'était guère favorable, ils étaient arrivés, en deux heures, à être au nombre de huit. Cela ferait, en 24 heures, seize millions d'individus provenant d'un seul, si, au bout de quelque temps, et par leur multiplication même, ils n'arrivaient à se gêner les uns les autres, et à borner par là leur puissance de développement.

Pour la cercomonade de MM. Dallinger et Drysdale, qui ne met pas plus de six à sept minutes à se diviser, un seul individu pourrait produire plus de mille rejetons en une heure, plus d'un million en deux heures, et en trois heures plus qu'il n'y a d'habitants à la surface de la terre. Avec la calycine, la multiplication serait plus lente. Mais, dans ces deux espèces de monades, de même que dans les autres, la reproduction par spores ou par séminules se fait avec une grande fécondité. Le travail total de formation de l'œuf dans la calycine peut durer 24 heures, mais le nombre de germes qui en sortent est incalculable.

Pour les vibrions, on peut, en réunissant des conditions convenables de liquide, d'aération, et de température, les multiplier assez dans une infusion pour que leurs spores forment en 3 jours, au fond des vases, une couche dont l'épaisseur est sensible à l'œil nu, et qui représente plusieurs millions de fois la semence introduite.

On voit combien est rapide la multiplication chez ces infiniment petits. Chose singulière, elle ne semble dépendre que dans une faible mesure du degré de complication organique, ou, pour parler plus exactement, du degré de différentiation des tissus chez l'être envisagé. Elle se retrouve, en effet, encore très grande chez des infusoires très élevés en organisation. On rencontre fréquemment par exemple, dans la couche glaireuse qui recouvre au bout de quelque temps une macération de foin abandonnée à elle-même à l'étuve, de gros infusoires, nommés *kolpodes*, qui sont presque visibles à l'œil nu, puisqu'ils peuvent atteindre un dixième de millimètre. Ils ont des cils vibratiles, une lèvre battante, un testicule et un ovaire, un cœur, des estomacs multiples et des besoins déjà très compliqués, car ils ne peuvent pas vivre aux dépens des matériaux solubles de l'infusion. Ils préfèrent la nourriture solide qu'ils trouvent dans les petits infusoires qui se sont nourris, eux, aux dépens de ces éléments solubles. Malgré leur complication fonctionnelle, ces êtres qui ont un mode très net de reproduction sexuelle, se reproduisent aussi par scissiparité, et, comme nous allons le voir, avec une rapidité assez grande.

J'ai eu la curiosité de suivre de l'œil, sous le microscope, la série des phénomènes qui se produisent alors. Quand il doit se reproduire, ce kolpode, qui est de forme allongée, devient globuleux. Ses organes intérieurs semblent se

fondre en une masse granuleuse homogène; seul, le cœur, ou la vésicule contractile qu'il porte à son arrière, reste visible et continue à battre d'un mouvement rhythmique et assez rapide. L'infusoire tout entier roule en même temps lentement sur lui-même. Au bout d'une heure, on voit se produire une segmentation qui partage la boule en deux moitiés. Le cœur est resté dans l'une d'elles. Au bout de deux heures, chacune des moitiés a sa vésicule contractile. L'infusoire tourne toujours lentement sur lui-même, son aspect granuleux n'a pas changé. On voit se prononcer de plus en plus une segmentation perpendiculaire à la première, et il se forme ainsi quatre animaux qui s'organisent peu à peu, prennent chacun un cœur, des cils à leur surface, subissent un commencement d'organisation intérieure. Lorsqu'ils sont devenus assez forts, ils se mettent à rouler les uns sur les autres, comme pour vaincre une sorte d'adhérence glutineuse, et finissent par se séparer, sans qu'on puisse voir de trace d'une enveloppe commune. Quatre heures leur suffisent pour toutes ces transformations Ces infusoires ont un autre mode de reproduction; mais en admettant qu'ils soient bornés à celui que nous venons de décrire, un seul être en aurait produit 4 096 au bout de 24 heures, et, au bout de 48 heures, plus de seize millions.

La figure 7 peut donner une idée de l'ensemble de ces phénomènes curieux.

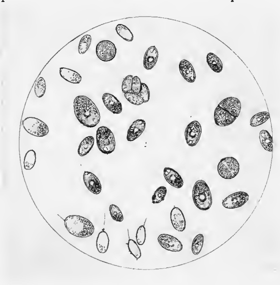


Fig. 7.

Elle ne se rapporte pas, il est vrai, au kolpode, mais à une espèce voisine dont a prolifération passe par les mêmes phases, et est encore plus rapide, car elle ne dure que deux heures au lieu de quatre.

On voit toute la puissance de reproduction de ces infiniment petits. Leur histoire est en quelque sorte dominée par deux faits de disproportion qui se répercutent l'un sur l'autre : disproportion entre la semence et le nombre d'êtres produits dans un temps très court; disproportion entre le poids de

matière vivante ainsi obtenue et le poids des matériaux qu'elle transforme par son action. Nous venons d'entrevoir le premier de ces phénomènes, qui est plutôt du ressort de l'histoire naturelle. Le second, dans ses diverses manifestations forme en entier le sujet de ce livre.

BIBLIOGRAPHIE

EHRENBERG. — *Organisation, systematische und geographische verhältnisse der infusions thieschen.* Berlin, 1830.

DUJARDIN. — *Histoire naturelle des infusoires.* Paris, 1841.

CORDA. — *Icones fungorum.*

KUTZING. — *Philos. botan.* — *Phycol. generalis.* Leipzig, 1843. — *Species algarum. Lipsiæ,* 1849.

TULASNE. — *Fungi hypogæi.*

STEIN. — *Die infusionsthierchen.*

DE BARY. — *Morphologie und physiologie der Pilze, Flechten und Myxomycetem.* Leipzig, 1866.

VAN TIEGHEM et LE MONNIER. — Recherches sur les mucorinées. *Ann. des sc. naturelles,* 1873.

DALLINGER et DRYSDALE. — *Monthly Microsc. Journal,* vol. IX, X, XI, XII et XIII.

PRAZMOWSKI. — Zur Entwickelungs geschichte und Ferment wirkung einiger Bakterien arten *Botanische zeitung,* 1879.

CHAPITRE IV

GÉNÉRATION SPONTANÉE

Le rôle important que nous avons été amenés à attribuer aux infiniment petits nous oblige à nous renseigner exactement sur leur origine. Prennent-ils naissance spontanément au sein de la matière morte par une métamorphose régressive, par une transformation naturelle des matériaux organiques, ou bien dérivent-ils nécessairement d'un être semblable à eux, venu de l'extérieur et se reproduisant suivant les lois ordinaires? Peuvent-ils, oui ou non, provenir de quelque autre chose que de la génération normale? Voilà la question que nous avons à nous poser.

A cette question, l'antiquité tout entière a répondu par l'affirmative, et, d'après elle, c'est ainsi que se formaient tous les animaux dont elle ne connaissait pas ou n'avait pu prendre sur le fait les parents. Un des plus grands hommes qu'ait produit l'humanité, Aristote, attribue à la fermentation du limon des fleuves la formation des anguilles, et celle des chenilles à la putréfaction de la terre ou des plantes sous l'action de la rosée. La fable d'Aristée, où Virgile raconte la naissance d'un essaim d'abeilles au milieu des entrailles d'un taureau mort, est connue de tout le monde, et n'est que l'expression des croyances de tous les naturalistes de l'époque. L'idée était d'ailleurs ancienne, car le livre des Juges, de l'Écriture Sainte, fait naître des abeilles des dépouilles d'un lion mort.

Au moyen âge et jusqu'à la Renaissance, ces idées ou des idées analogues ont régné sans conteste, et il n'a pas fallu moins que l'esprit de libre examen qui s'empara au XVIIe siècle de la philosophie et des sciences pour faire révoquer en doute des opinions si vieilles et si bien accréditées.

C'est surtout à l'Académie del Cimento, à Florence, qu'il faut rapporter l'honneur d'avoir mis sur le tapis, à cette époque, la question des générations spontanées; l'un des membres de cette académie, le médecin Redi, fit à ce sujet, en 1638, des expériences du plus haut intérêt. On croyait, par exemple, que la viande en putréfaction donnait spontanément naissance à ces vers que tout le monde connaît. Redi montra que ces vers provenaient d'œufs déposés par les mouches qui, guidées par un sûr instinct, et attirées par l'odeur de la viande, venaient y pondre, pour que la jeune larve se trouvât dès sa naissance dans un milieu

propre à son développement. Ce qui le prouve, c'est qu'il suffit de conserver la viande dans un vase recouvert d'un morceau de gaze, qui empêche l'accès des mouches, pour qu'il ne s'y engendre jamais de vers. Des expériences analogues, faites par Vallisnieri sur les insectes qu'on rencontre quelquefois à l'intérieur des fruits, par Swammerdam sur la génération des abeilles et d'autres insectes, vinrent ébranler la doctrine des générations spontanées sur les points où elle se croyait le mieux établie, et les esprits s'en détachaient peu à peu, lorsque, vers la fin du XVII[e] siècle, la découverte du microscope vint tout remettre en question.

Ère du microscope. — En examinant au microscope de l'eau pluviale qui était restée exposée à l'air, Leuwenhoeck (1678) y découvrit une multitude d'êtres animés, d'une petitesse extrême, qui n'y existaient pas au moment où il avait recueilli le liquide. Ces êtres sont bien plus nombreux et bien plus divers quand on abandonne à elle-même, et au libre contact de l'air, une infusion organique quelconque, par exemple une décoction filtrée de viande, de levure, de foin. On voit bientôt le liquide, primitivement limpide, se troubler dans toute sa masse, puis se recouvrir à sa surface d'une couche gélatineuse, que le microscope montre formée d'une myriade d'êtres divers.

Nous avons trouvé plus haut une sorte de classement systématique des espèces nombreuses auxquelles ils appartiennent, et on a vu quelle variété de formes, de dimensions, de modes de reproduction on y rencontre. Il semble qu'on soit là au milieu d'un monde absolument différent de celui au milieu duquel nous vivons.

C'est dans ce monde si étrange d'infiniment petits que s'implanta la doctrine des générations spontanées, en 1745, à la suite d'expériences faites par un observateur habile, nommé Needham. Elle y est restée confinée depuis. Elle a abandonné toute prétention sur la génération des êtres plus élevés en organisation, mais le domaine du microscope est le sien, et si nous voulons avoir une idée de la façon dont elle explique la production de tous ces petits êtres, nous n'avons qu'à écouter l'un de ses plus illustres adeptes, Buffon, dont Needham, à propos de ces mêmes questions, avait été l'hôte et le collaborateur.

Système de Buffon. — Les idées de Buffon sur la génération spontanée procèdent très naturellement de celles qu'il se faisait sur la nature organique. Il y voyait une infinité d'êtres tous composés de parties organiques vivantes, primitives et incorruptibles, communes aux animaux et aux végétaux, et dont les assemblages divers formaient les divers êtres. La nutrition et la génération n'étaient que des changements de formes s'opérant par la seule addition de ces parties semblables, de même que la destruction de l'être organisé ne se faisait que par la division de ces mêmes parties. Un être ne différait d'un autre qu'en ce qu'il avait un moule organique différent. Ce moule, préconçu, et qui devenait la propriété la plus immanente de l'être, tendait à se réaliser en vertu de ses forces propres. C'est lui qui, dans la nutrition, disposait les molécules organiques des aliments de façon à ce qu'elles pénètrent le corps dans un certain ordre relatif à ce moule, de sorte qu'elles ne pouvaient pas le changer, mais

seulement en augmenter les dimensions, et produire ainsi l'accroissement des corps organisés et leur développement. C'est encore lui qui, dans la génération, se trouvant tout d'abord réalisée en petit dans un des parents, mais pouvant s'en séparer à un certain moment, se développe et offre bientôt une forme semblable, tant à l'extérieur qu'à l'intérieur, à celle de l'être qui lui a donné naissance.

On peut remarquer les ressemblances qui existent entre cette théorie de Buffon et la théorie nouvelle de la cellule. Entre les molécules organiques du grand naturaliste, et les cellules que les progrès de la science nous ont amenés à considérer comme les éléments vivants des animaux et des végétaux inférieurs ou supérieurs, il y a évidemment des analogies très grandes, mais les différences ne le sont pas moins. Il a fallu individualiser la cellule, tandis que la molécule organique ne l'était pas. Nous avons mis dans la cellule l'origine des forces auxquelles elle obéit, au lieu de la placer à l'extérieur comme le faisait Buffon, par une conception purement métaphysique. L'être et le devenir sont donc tout différents pour la cellule et la molécule organique. Nous allons voir l'importance de ce fait en arrivant à l'idée que se faisait Buffon de la génération spontanée.

La vie propre de la molécule organique étant indépendante du moule où elle était entrée, devait tout naturellement, dans les idées de Buffon, persister après la disparition du moule. Mises en liberté par la destruction du moule qu'elles contribuaient à former, « ces molécules organiques, toujours actives, travaillent à remuer la matière putréfiée; elles s'en approprient quelques particules brutes, et forment par leur réunion une multitude de petits corps organisés dont les uns, comme les vers de terre, les champignons, paraissent être des végétaux ou des animaux assez grands, dont les autres, en nombre presque infini, ne se voient qu'au microscope. Tous ces corps n'existent que par une génération spontanée, et cette génération spontanée s'exerce et se manifeste toutes les fois que des êtres organisés se décomposent. Elle s'exerce continuellement et universellement après la mort, et quelquefois aussi pendant la vie, lorsqu'il y a quelques défauts, dans l'organisation du corps, qui empêchent le moule intérieur d'absorber et d'assimiler toutes les molécules organiques contenues dans les aliments. Ces molécules organiques surabondantes cherchent à se réunir avec quelques particules de la matière brute des aliments, et forment, comme dans la putréfaction, des corps organisés. C'est là l'origine des tœnias, des ascarides et des douves. »

Needham et Spallanzani. — A l'appui de cette théorie, Buffon avait bien fait quelques expériences, mais il trouve ses meilleurs arguments dans le livre que Needham avait publié à Leyde en 1747, sous le titre de *Nouvelles découvertes faites avec le microscope*, et dans les expériences faites par le même savant, après un court séjour qu'il fit auprès de Buffon en 1756. Ce sont ces dernières qui, seules, sont restées intéressantes. Needham y avait employé un mode d'investigation destiné à jouer un rôle important dans les controverses sur la question. Il avait introduit les substances putréfiables dans des flacons (fig. 8) qu'il avait ensuite bouchés, et chauffés à l'ébullition en les enterrant en entier dans des cendres chaudes. S'il y avait eu dans leur intérieur des

germes vivants, la chaleur devait les tuer, et si, dans des vases ainsi traités, on trouvait au bout de quelque temps des êtres vivants, ces êtres ne pouvaient être que le produit de la génération spontanée.



Fig. 8.

L'expérience, lorsqu'elle réussissait, pouvait sembler concluante, et les résultats de Needham, appuyés de l'autorité de Buffon, trouvaient créance dans le monde savant lorsqu'ils rencontrèrent, en 1765, un critique redoutable dans l'abbé Spallanzani. En répétant les expériences de Needham, mais avec la seule précaution de chauffer les vases clos plus longtemps que ne l'avait fait ce savant, Spallanzani y supprimait toute production d'infusoires. Donc, concluait-il, Needham ne chauffait pas assez, et comme c'était à lui de faire la preuve de sa théorie, le seul fait sur lequel il pouvait s'appuyer étant démontré inexact, sa théorie disparaissait d'elle-même.

Point du tout, répondait Needham, avec beaucoup de courtoisie, du reste. Si vos infusions restent stériles, c'est que vous chauffez trop : vous altérez ainsi l'air de vos vases, ou bien vous anéantissez la force végétative de vos liqueurs. La première de ces objections était acceptable, bien qu'elle manquât de force et de précision à une époque où la composition de l'air était encore inconnue. Mais que dire de la seconde? La force végétative des liqueurs ne rappelait-elle pas invinciblement la vertu dormitive de l'opium, ridiculisée cent ans auparavant par Molière? Elle a pourtant fait fortune, et il est remarquable que, dans les discussions sur cette question, s'il s'est toujours trouvé des esprits qui, comme Spallanzani, se sont efforcés de ne jamais aller au delà de l'expérience, il y en a toujours eu aussi qui, comme Needham, n'ont jamais hésité, en un besoin pressant, à recourir à la force végétative, à la vertu génésique des infusions, ou à d'autres entités non moins chimériques.

Quoi qu'il en soit, le débat soulevé resta sans conclusion positive, chacun des adversaires montrant bien que l'autre avait tort, mais ne prouvant pas que lui-même avait raison. Gay-Lussac plus tard, en étudiant les conserves d'Appert, qui ne sont autre chose que l'application à l'économie domestique des résultats de Spallanzani, trouva que l'air des boîtes ne renfermait plus d'oxygène. Ce fait semblait donner gain de cause à Needham. Mais les résultats de Gay-Lussac furent infirmés à leur tour, en 1837, par une expérience de Schwann.

Schwann, Schultze, Schröder et Dusch. — Cette expérience est celle de Needham et de Spallanzani, mais faite dans des conditions telles qu'on puisse renouveler l'air des vases. Pour cela Schwann ferme le ballon ou le flacon, ren-

fermant de la viande et de l'eau, avec un bouchon percé de deux trous (fig. 9) dans lesquels passent deux tubes coudés d'abord, puis recourbés en U sur une portion assez grande de leur longueur. Leurs courbures sont plongées dans un bain d'alliage fusible A, que l'on maintient à une température voisine du point

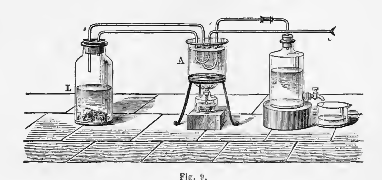


Fig. 9.

d'ébullition du mercure. On commence par faire bouillir le liquide en L pour le stériliser, et on le laisse refroidir, l'air rentrant par les tubes chauffés. On renouvelle cet air de temps en temps en adaptant à l'extrémité de l'un des tubes un aspirateur pendant qu'on chauffe le bain d'alliage, et on va assez lentement pour que l'air, qui se chauffe en traversant la courbure chauffée, arrive froid à l'intérieur du ballon. Dans ces conditions, on n'observe aucune putréfaction du liquide organique.

Cette expérience répondait à l'objection relative à l'altération possible de l'air dans les expériences de Spallanzani, et donnait gain de cause à ce savant contre Needham. Elle témoignait que la fécondité des infusions était due à *quelque chose* existant dans l'air et que la chaleur détruisait. Il n'était même pas nécessaire, pour détruire ce *quelque chose*, d'essence inconnue, d'avoir recours à l'action d'une température élevée. Schultze, en 1836, arriva au même résultat en substituant (fig. 10) aux deux tubes du flacon de Schwann, deux laveurs de Liebig, renfermant l'un une dissolution de potasse, l'autre de l'acide sulfurique.

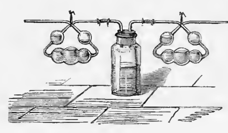


Fig. 10.

En aspirant du côté de la potasse, on faisait arriver doucement dans le flacon de l'air qui avait barboté à travers de l'acide concentré, et pendant deux mois,

l'air étant renouvelé tous les jours de cette façon, on ne put constater la production d'un seul infusoire.

Enfin, en 1854, Schröder et Dusch arrivèrent au même résultat négatif, en faisant arriver, sur l'infusion, de l'air simplement tamisé sur de la ouate de coton tassée dans un tube de verre d'une longueur assez grande (fig. 11).

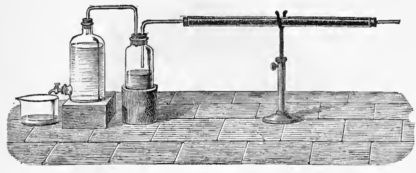


Fig. 11.

Tous ces travaux corroboraient les résultats de Spallanzani. Mais Spallanzani n'avait fait qu'infirmer l'interprétation de Needham, sans pouvoir lui en substituer valablement une autre. Quel était, dans l'air, ce principe de vie que le feu détruisait, que le passage au travers de l'acide sulfurique ou du coton tassé arrêtait ou empêchait d'agir ? On avait bien une tendance à croire que l'air n'agissait que par les germes qu'il tient en suspension, et dont on supprimait l'influence par les divers moyens employés, mais personne ne l'avait démontré. D'ailleurs, il s'en fallait de beaucoup que les expériences de Schwann, de Schultze, de Schröder et Dusch réussissent toujours et pour toutes les infusions employées. Or, tant qu'il y avait un ballon resté fécond malgré les précautions prises, la doctrine des générations spontanées avait le droit de s'emparer de ce résultat, et d'en réclamer le bénéfice.

Pouchet. — Pouchet apporta précisément en 1858 et 1859 un grand nombre de faits pareils, dans lesquels il montrait des infusions se peuplant d'êtres divers, bien qu'il eût pris, en apparence du moins, toutes les précautions nécessaires pour en éliminer les germes. Toutes ses expériences n'étaient pas également bonnes, quelques-unes témoignaient même d'une méconnaissance complète des lois de l'investigation scientifique. Parmi celles, en petit nombre, qui pouvaient paraître probantes, je citerai seulement celle-ci :

Dans un ballon plein d'eau bouillie et renversé sur la cuve à mercure, on fait arriver de l'air ordinaire ou bien encore des gaz de la pile, de façon à le remplir aux trois quarts. Puis on y introduit (fig. 12), en la faisant passer par dessous le mercure, une bourre de foin exposée depuis 20 minutes, dans une étuve, à la température de l'eau bouillante. Au bout de quelques jours, on voit se produire dans ce flacon des végétations cryptogamiques nombreuses et des infusoires variés. Il est difficile d'admettre que l'air introduit renferme une pareille profusion de germes. L'objection provenant de ce côté disparaît

d'ailleurs quand on emploie les gaz provenant de la décomposition de l'eau. D'un autre côté, le foin, chauffé à 100°, ne doit avoir apporté dans le flacon rien de vivant. Comment donc expliquer la fécondité de l'infusion?

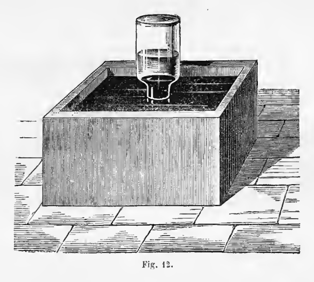


Fig. 12.

Les résultats de Schwann, de Schultze, tendaient bien à faire croire qu'il y avait une cause d'erreur dans l'expérience ainsi conduite, mais où était-elle? Personne ne pouvait l'indiquer. Toutefois, l'Académie des sciences de Paris, sentant l'importance de la question, et voyant tout ce qu'il y avait à faire pour la résoudre, proposa pour sujet de prix l'étude de la génération spontanée. La commission chargée de formuler le programme, composée de MM. Geoffroy-Saint-Hilaire, Brongniart, Milne Edwards, Serres et Flourens, rapporteur, le fit de la façon la plus nette en demandant « des expériences précises, rigoureuses, également étudiées dans toutes leurs circonstances, telles, en un mot, qu'il puisse en être déduit un résultat dégagé de toute confusion née des expériences mêmes. »

M. Pasteur. — A l'appel de l'Académie, M. Pasteur répondit d'une façon magistrale, et on peut dire qu'il n'a laissé, sans les résoudre, aucune des difficultés qu'avaient rencontrées les expérimentateurs qui l'avaient précédé dans cette voie. Nous allons passer en revue les principales expériences qu'il a faites pour cela, bien que depuis il ait appris à simplifier ses procédés opératoires, parce que ces expériences méritent de rester classiques. On peut dire qu'elles ont été le point de départ d'une science nouvelle dont la fécondité n'est plus à démontrer aujourd'hui. Mais nous indiquerons, en passant, les simplifications dont elles sont susceptibles, en entrant dans assez de détails à propos de chacune d'elles pour qu'on puisse la répéter avec la certitude de réussir.

La démonstration de M. Pasteur a roulé sur les trois points suivants :

1° On peut montrer directement la présence dans l'air d'un grand nombre de corpuscules solides, parmi lesquels il en est de tellement semblables aux spores

des moisissures ou aux œufs des microzoaires, qu'aucun micrographe ne pourrait les distinguer ;

2° Toutes les infusions organiques, si altérables qu'elles soient, restent intactes quand elles ont été convenablement chauffées et qu'on les met en présence de l'air calciné. Mais si, après avoir constaté leur stérilité, on y introduit, à l'abri de toute cause d'erreur, une bourre de coton chargée des poussières puisées dans l'air, elles se comportent comme si elles avaient été librement exposées à l'air ambiant ;

3° L'inaptitude à féconder les infusions, que possède l'air, filtré sur le coton ou calciné, ne tient pas à ce que ces opérations y ont détruit un principe plus ou moins mystérieux (gaz, fluide, ozone, etc.) ayant la propriété de provoquer l'organisation des liquides organiques, car on peut arriver au même résultat par tout dispositif mettant en présence du liquide bouilli, de l'air ordinaire débarrassé de ses éléments solides. Enfin, cette inaptitude ne tient pas non plus à ce que le liquide a bouilli, car on peut supprimer l'ébullition, à la condition d'opérer sur des liquides qui n'ont jamais eu le contact de l'air et des poussières qu'il contient.

Présence de germes dans l'air. — *A priori*, l'existence de germes dans l'air n'a rien qui doive surprendre. Il y a partout tant d'infusions organiques et partant, tant d'infusoires, ceux-ci sont si petits et ont des germes si minuscules et si légers, ils sont, en outre, comme nous l'avons vu, si prodigieusement féconds que leurs semences doivent être répandues partout. Pour ne prendre qu'un exemple, la petite mucédinée, que nous avons appris à connaître dans le chapitre précédent, sous le nom de pénicillium glaucum, et qui forme à la surface du pain moisi, des fruits acides, du fromage vieux, des arbres et des plantes en décomposition, ces touffes vert-bleuâtres que tout le monde connaît, est tellement fréquente à la surface du globe, qu'il n'y a pour ainsi dire pas un mètre carré qui n'en renferme quelques pieds. Or, chacun de ces pieds est formé, comme nous l'avons vu, d'une petite tigelle dont la hauteur ne dépasse pas 1 ou 2 millimètres, couronnée par des bouquets de files ondoyantes de petites sphérules, qui sont des germes, et que le moindre souffle détache et met en suspension dans l'air. Chaque pied du végétal porte plusieurs milliers de ces germes dont chacun peut donner un végétal entier, identique à celui dont il provient, à la condition de rencontrer un peu d'eau et de matière organique. Comment l'atmosphère ne recélerait-elle pas des millions de ces germes et des millions de germes d'êtres semblables. Mais si quelqu'un en doutait, voici le moyen de le prouver.

A l'aide d'un courant d'eau entrant en *e* dans un aspirateur quelconque (fig. 13) on fait passer un courant d'air, continu et assez prolongé, au travers d'une bourre de coton-poudre *bc* contenue dans un tube de verre, et maintenue en place par deux petites spirales formées d'un fil de platine. Le tube débouche librement dans l'espace où on veut étudier l'air. La bourre de coton-poudre se salit peu à peu et se noircit, en arrêtant au passage tous les corpuscules solides répandus dans l'air. Quand on juge l'expérience suffisante, on retire la bourre et on l'introduit dans un tube à essai avec de l'éther. Tout ce qui est coton-poudre

se dissout, et en laissant reposer pendant vingt-quatre heures le liquide, on rassemble toutes les poussières au fond du tube, où il est facile de les laver par décantation. Cela se fait sans aucune perte, si on a soin de séparer deux lavages par un repos suffisant. Quand on a ainsi éliminé tout le coton-poudre, on réunit toutes les poussières dans un verre de montre, où ce qui reste d'éther s'évapore promptement. On délaie alors le résidu dans un peu d'eau, et on l'étudie au microscope.

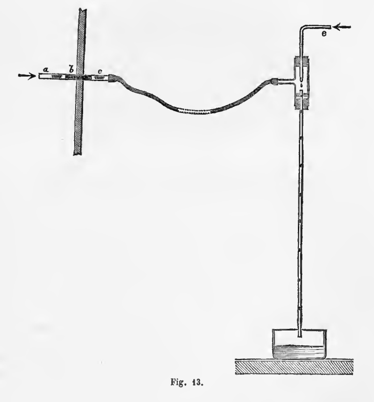


Fig. 13.

On trouve dans ces poussières tous les mille débris qu'on peut s'attendre à y rencontrer, des fragments de suie provenant de nos cheminées, des brins de laine ou de coton provenant de nos vêtements, des plumules de papillons, des aigrettes végétales, des grains de pollen, des fragments de tissus indistincts, des globules d'amidon, de fines particules siliceuses ou calcaires, bref, tout ce qui, parmi les objets existant à la surface de la terre, est assez léger pour entrer en suspension dans l'air. On y trouve aussi, et c'est là ce qui nous intéresse, un grand nombre de corpuscules ronds ou ovales d'apparence organisée, en tout cas tellement semblables aux germes des microzoaires ou aux spores des végétations cryptogamiques qu'il est absolument impossible de les en distinguer.

Dénombrement approximatif des germes de l'air. — Pour se faire une idée approximative de leur nombre, on peut délayer les poussières

qui proviennent d'un volume déterminé d'air, dans un volume déterminé de liquide, auquel on applique les procédés de numération microscopique usités pour les infiniment petits. On peut encore, comme M. Miquel l'a fait à Montsouris, employer la trompe aspiratrice à projeter l'air, par une ouverture d'un demi-millimètre de diamètre, sur une goutte d'un mélange de glycérine et de glucose, qu'on soumet ensuite directement au microscope. Ce procédé est moins sûr que le précédent, parce qu'un grand nombre de germes lui échappent. Les nombres qu'il fournira seront donc des nombres minimum.

Une autre cause d'erreur, celle-ci commune à tous les procédés opératoires, fait que les nombres qu'on obtient ainsi sont toujours au-dessous de la réalité. C'est que, quelque soin qu'on y mette, beaucoup de germes échappent à l'observation, soit par suite de leur petitesse, soit parce qu'ils apparaissent trop indistincts pour qu'on puisse les considérer comme tels. On ne compte donc que les cellules organisées les plus grosses et les plus nettes, et pourtant M. Miquel en a trouvé le nombre variant entre 500 et 120 000 par mètre cube d'air. Les plus communes sont les spores de mucédinées, dont les diamètres varient de 2 millimètres à $\frac{2}{100}$ de millimètre. Viennent ensuite les fructifications de certains champignons, parmi lesquelles on reconnaît, à la description qu'en donne M. Miquel, les organes reproducteurs de l'*alternaria tenuis*, plante en effet très abondamment répandue. Suivent des grains de pollens de grosseur et de couleur très variable, puis des grains d'amidon, qui sont environ aux autres productions comme 1 est à 100, enfin des algues vertes que l'air transporte quelquefois en essaims et en amas.

Ces corpuscules ne sont pas toujours également nombreux. Leur chiffre moyen, faible en hiver, augmente, comme on pouvait s'y attendre, rapidement au printemps. Il reste à peu près stationnaire en été, et diminue en automne. M. Miquel trouve aussi qu'il y en a toujours beaucoup plus après la pluie qu'avant, ce qui est en désaccord avec tout ce que l'on sait sur la transparence de l'atmosphère. Mais il y a sans doute là une cause d'erreur inhérente au procédé. Ces germes, voyageant dans l'air, s'entourent lorsqu'il est sec d'une couche grasse, ce que démontre le toucher gras de toutes les poussières sèches, et dès lors échappent en presque totalité à l'action du liquide visqueux qui doit les retenir. Humectés, au contraire, par un séjour dans l'air humide, les mêmes phénomènes capillaires qui tout à l'heure facilitaient leur évasion facilitent maintenant leur adhérence. Telle est aussi, peut-être, une des causes de l'état stationnaire du chiffre des germes pendant l'été, la saison où leur reproduction est la plus abondante, et leur diffusion dans l'air la plus facile.

Parmi les germes de l'air, il y en a de vivants. — Nous avons seulement démontré jusqu'ici qu'il y avait dans l'air des germes d'aspect organisé. Mais nous n'avons pas prouvé qu'il y en avait de vivants. On peut employer pour cela divers procédés.

De tous, le plus simple est un procédé que M. Pasteur avait indiqué sans l'employer, et que j'ai mis en œuvre. Il consiste à aller chercher, dans l'air, en le tamisant au travers une bourre de coton par le moyen que nous avons em-

ployé plus haut, les spores dont il s'agit de démontrer la vitalité. Quand la bourre de coton est chargée, on la malaxe dans quelques gouttes d'un liquide nutritif convenable, où les poussières atmosphériques entrent en suspension. Une goutte de ce liquide est alors portée sous le microscope dans une cellule à germination.

Le meilleur modèle de ces cellules indiqué, par M. Prazmowski, est une lame de verre épaisse, dans laquelle on a creusé une rainure circulaire d'un millimètre de profondeur environ, entourant une petite tablette circulaire aussi, et dont la surface est de quelques centièmes de millimètre au-dessous de la surface de la plaque qui la porte (fig. 14). Quand on a couvert cette lame de sa lamelle, il reste entre celle-ci et la tablette un petit espace où se loge la goutte chargée de poussières qu'il s'agit d'étudier.

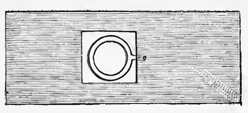


Fig. 14.

La lame est elle-même fixée sur une platine mobile, douée de deux mouvements rectangulaires, et dont les déplacements sont mesurés par deux verniers. On passe alors méthodiquement en revue l'intérieur du liquide, et l'on note sur les verniers la position de tous les globules qu'on y rencontre. Puis on abandonne la goutte à elle-même à l'étuve, mais dans un espace saturé d'humidité de façon à éviter, autant que possible, l'évaporation.

Le soin qu'on a pris de noter la position des spores serait illusoire si le liquide nutritif employé permettait le développement d'espèces douées de mobilité, quittant l'endroit où elles ont pris naissance, et dérangeant de leur position les corpuscules voisins. On évite sûrement cet inconvénient en employant comme liquide nutritif une dissolution sucrée, acidulée par du bitartrate d'ammoniaque et additionnée de sels minéraux. Ce liquide est impropre, à raison de son acidité, au développement des bactéries et des vibrions; il est, par contre, très favorable à la germination des spores des végétaux cryptogamiques. Celles-ci ont besoin d'air, qu'elles trouvent dans la rainure qui entoure le liquide, et qu'un petit prolongement, en *o*, met en communication, en dehors de la lamelle, avec l'air extérieur. Aussi le lendemain, ou, au plus tard, le surlendemain, trouve-t-on des spores, restées en place, qui commencent à germer et se développent en myceliums quelquefois très rameux.

On peut remplacer ces cellules par une lame ordinaire sur laquelle on limite, au moyen d'un petit boudin de brai gras, une cellule à trois compartiments, de la forme indiquée dans la fig. 15. Les deux compartiments extrêmes sont séparés du médian par quelques brins de coton, dont les extrémités sont noyées dans le brai. La cellule centrale est seule recouverte de la lamelle. Ces deux prolon-

gement latéraux sont maintenus constamment pleins de liquide. C'est par eux que se fait l'aération et l'évaporation. L'avantage de ce dispositif est qu'on peut changer contre un autre le liquide nutritif qui a donné un premier dé-

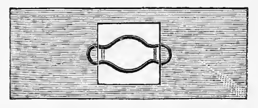


Fig. 15.

loppement, et voir dans ce nouveau liquide germer des corpuscules qui étaient restés inertes dans le premier. Il suffit de maintenir l'un des compartiments extrêmes constamment plein du liquide, pendant qu'on pompe, à l'aide d'un tortillon de papier buvard, celui qui vient se réunir dans l'autre. On peut encore, plus simplement, immerger la lame toute entière dans une masse un peu grande du nouveau liquide, et laisser agir alors la diffusion.

Ces procédés opératoires, sur lesquels j'insiste maintenant, nous serviront plus tard à résoudre des problèmes délicats. Pour le moment, ils nous permettent, comme on voit, d'affirmer sans ambages que, parmi les corpuscules puisés dans l'air, il y a des germes vivants.

Nous sommes donc autorisés à chercher en eux les causes de la fécondité des infusions organiques que l'on n'a pas protégées de leur contact. Mais M. Pasteur, ne voulant laisser, dans sa démonstration, aucune place à l'hypothèse, a dû chercher à prouver que c'était à eux, et uniquement à eux, qu'était due l'altération des liqueurs exposées à l'air. Voici quel est le moyen qu'il a employé pour cela.

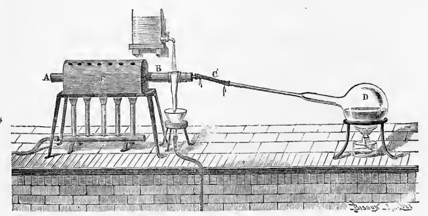


Fig. 16.

Un ballon D, fig. 16, renfermant une infusion quelconque, est relié par son co effilé avec un tube de platine AB, placé dans un fourneau, et chauffé au rouge. Une petite bande de linge, enroulée en B, et arrosée d'une façon continue par

quelques gouttes d'eau, empêche le bouchon, voisin de cette extrémité, de céder à l'action de la chaleur, et de laisser entre le tube et lui des vides par où l'air pourrait entrer.

En portant l'infusion à l'ébullition, on chasse l'air du ballon, et en même temps on tue les germes pouvant exister sur ses parois ou dans l'infusion elle-même. Si alors on laisse refroidir le liquide, l'air rentre peu à peu, se brûle au contact du tube chauffé, et pénètre dans le ballon, privé des germes qu'il aurait pu contenir. Sitôt que le ballon est froid, on le ferme à la lampe.

C'est, comme on le voit, une autre forme de l'expérience de Needham, de Spallanzani, de Schwann et des autres. Mais elle est faite ici dans des conditions qui la font sûrement réussir. C'est précisément cette sûreté qui la rend très probante. Nous avons en effet dans notre ballon tout ce qu'il faut pour la manifestation de la génération spontanée, si cette génération est possible ; il y a de la matière organique, de l'air, et de l'eau, et pourtant rien n'apparaît, parce qu'il y manque la matière vivante recueillie sur la bourre de coton de tout à l'heure.

Reprenons, en effet, notre ballon D, et en le laissant fermé, adaptons son col, au moyen d'un fort tube de caoutchouc, à un tube de verre épais V (fig. 17) ouvert aux deux extrémités, et dans lequel nous aurons introduit un petit tube *a* contenant une bourre noircie par les poussières de l'air. L'autre extrémité du tube V peut être mis, par l'intermédiaire d'un tube de laiton T, à trois branches munies de robinets, en communication avec une machine pneumatique par M, et par B, avec un tube de platine porté au rouge dans un fourneau.

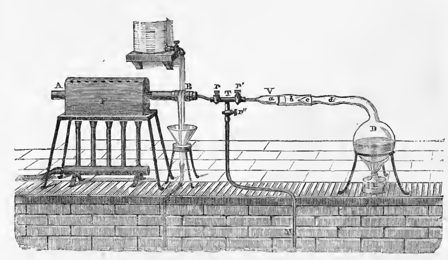


Fig. 17.

Les choses ainsi disposées, on ferme *r* et on ouvre *r'* et *r''*, on fait le vide dans le tube de verre V, autour de la bourre de coton, jusqu'au col fermé du ballon D. Puis, en fermant *r''* et ouvrant *r*, on laisse entrer de l'air calciné. On recommence à plusieurs reprises cette opération. Tout l'air contenu dans l'ap-

pareil est alors, comme celui du ballon D, de l'air calciné, impropre à porter la vie dans une infusion organique. On brise alors, en *b*, au travers du caoutchouc, et au moyen d'une pince, le col du ballon, on fait passer en *d* le petit tube avec la bourre, et on ferme à la lampe en *c*. Le ballon est maintenant clos, il renferme, la bourre d'un côté, de l'autre le liquide. Rien ne s'y produit; mais si l'on fait arriver le coton sali dans le liquide, on voit celui-ci se troubler au bout de 24 ou de 48 heures, c'est-à-dire au bout du même temps que s'il était resté exposé à l'air libre.

Comment, en présence de ces résultats, ne pas attribuer la fécondité de l'infusion aux poussières puisées dans l'air par la bourre. Or, dans ces poussières, il y a des matières amorphes et des corpuscules organisés. On a le droit de choisir. Si l'on admet que tout vient de ces corpuscules organisés, on retombe sur des phénomènes de génération ordinaire; si on ne l'admet pas, il faut recourir aux masses amorphes. Le mérite du travail de M. Pasteur est d'avoir réduit à ce dilemme écrasant les partisans de la génération spontanée.

On a essayé, en désespoir de cause, de s'en prendre au coton de la bourre, dans l'expérience précédente, et de dire que ce coton, en tant que matière organique, pouvait avoir eu quelque influence sur les résultats. Mais rien n'est plus facile de remplacer ce coton par de l'amiante calcinée au préalable. Mise seule dans une infusion, elle la laisse stérile. Introduite, après qu'elle s'est chargée des poussières de l'air, elle la féconde. Rien n'est plus probant que tous ces résultats pour tout esprit non prévenu. L'ensemble a toute la précision d'une démonstration géométrique.

Appareil de culture des microbes. — On peut revenir aux mêmes conclusions par un manuel opératoire plus simple et avec une rigueur presque aussi parfaite, en se servant d'appareils, imaginés aussi par M. Pasteur, et qui sont devenus entre ses mains des appareils usuels de culture des infiniment petits. Nous allons décrire avec détail les manipulations à faire pour cela, parce que ces manipulations, toutes dirigées en vue d'exclure les causes d'erreur si fréquentes en pareille matière, font partie intégrante d'une méthode de travail très féconde quand elle est bien mise en œuvre, mais qui devient subitement stérile et trompeuse, lorsqu'on néglige ou qu'on oublie quelqu'une de ses prescriptions.

Préparation des infusions organiques.— Ces infusions peuvent être de diverse nature, et doivent être préparées avec quelques précautions.

Pour obtenir ce que nous emploierons souvent sous le nom d'eau de levure, on prendra de la levure fraîche de brasserie, de préférence à toute autre. Celle qu'on trouve dans le commerce est presque toujours mêlée de fécule ou d'amidon, et ne donne jamais de décoctions limpides. On met cette levure en suspension dans l'eau, et on la passe au travers d'un tamis de soie à mailles serrées pour la débarrasser de ses grosses impuretés. On la laisse reposer quelques minutes dans le vase qui l'a reçue après tamisage, et on décante ensuite, pour séparer les matériaux plus lourds que la levure, et qui sont tombés au fond pendant que celle-ci restait en suspension. On abandonne alors le liquide à lui-même pendant 24 heures, pendant lesquelles la levure se dépose à

son tour. On décante le liquide trouble surnageant. On délaie le reste dans un volume d'eau suffisant, de façon qu'il y ait de 50 à 100 grammes de levure par litre, on porte à l'ébullition en agitant constamment, et quand le liquide bout, on le jette sur un filtre. Il en sort toujours clair lorsque la levure est fraîche et a été conservée assez au froid pendant l'opération. Quand il est un peu louche, on réussit d'ordinaire à l'éclaircir en y déterminant un léger précipité de phosphate de chaux au moyen d'acide phosphorique qu'on sature ensuite par l'eau de chaux. La liqueur ainsi traitée devient neutre, tandis qu'elle est un peu acide quand elle provient d'une simple décoction.

Pour l'eau de foin, on coupe du foin en paillettes et on le fait bouillir quelques minutes. La liqueur est presque toujours limpide et un peu acide. La dissolution de foin vert est loin d'être identique à celle du foin desséché.

Le bouillon de viande se préparera en hachant la viande menu, et en portant lentement à l'ébullition la pulpe mise en suspension dans l'eau. On filtre sur un filtre mouillé. Si, malgré cela, il passe de la matière grasse, on laisse refroidir, et on siphonne le bouillon refroidi. Il est toujours un peu acide, et doit être très limpide.

Pour l'urine, il faut tenir compte de ce qu'elle se trouble quelquefois et peut même devenir un peu alcaline à l'ébullition. On la fera donc bouillir, après l'avoir neutralisée, si cela est nécessaire, et on la filtrera chaude. Le lait sera employé aussi frais que possible, mais il sera bon de le laisser reposer quelques heures pour laisser la crème monter. On siphonne ensuite le lait écrémé, dont l'observation au microscope est plus facile.

Voilà pour l'infusion organique. Voici les moyens de la mettre en œuvre:

Flambage des tubes. — Prenons pour cela un vase de verre, ayant la forme dessinée dans la fig. 18, portant en *a* une tubulure effilée, et fermé en *b* par



Fig. 18.

un tampon de coton qui laisse passer l'air, mais qui arrête toutes les particules solides que nous savons y être en suspension. Comme rien ne nous assure que ce tube ne porte pas de germes sur sa surface intérieure, élevons-le au préalable à une température de 200 à 250°. Le meilleur moyen pour cela est de se servir d'un fourneau à gaz analogue à celui qui est représenté fig. 19, formé d'une enveloppe de tôle chauffée extérieurement par le gaz, et à l'intérieur de laquelle est suspendu un panier à claire-voie, en fil de fer ou de lai-

ton, dans lequel on peut placer plusieurs tubes. Il faut chauffer jusqu'à ce que les tampons de coton commencent à roussir.

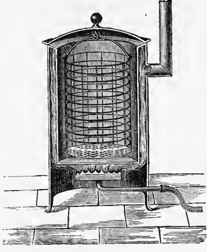


Fig. 19.

Puis on laisse refroidir. Tous les germes présents sont détruits. Le tube se remplit, en se refroidissant, d'air en partie calciné, et en tout cas filtré sur le coton roussi. On peut donc être sûr qu'il n'y a dans son intérieur rien de vivant. Nous désignerons désormais cette opération, que nous aurons souvent à mentionner, sous le nom de *flambage*.

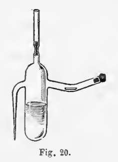
Nous pouvons maintenant, avec ce tube, répéter, avec plus de facilité dans le manuel opératoire, les expériences de démonstration citées plus haut.

S'agit-il, par exemple, de montrer qu'en présence de l'air pur, les infusions organiques restent stériles, nous porterons l'une quelconque d'entre elles à l'ébullition dans un vase ouvert, par exemple dans une capsule de porcelaine ou un vase de bohême à bords droits. Pendant qu'elle bout, on prend le tube préparé plus haut, on passe rapidement l'effilure *ac* dans une flamme, on y fait, en *c*, un trait avec une lime ou un couteau à verre, on brise la pointe sans chocs, on la repasse de nouveau dans la flamme et on l'introduit dans l'infusion bouillante et débarrassée par cette ébullition même des germes vivants qu'elle pouvait contenir. On aspire doucement en *b* pour faire pénétrer dans ce tube une certaine quantité de liquide. Quand on en a introduit assez, on cesse d'aspirer. Le liquide soulevé dans la tubulure latérale retombe tout doucement dans le vase. On enlève le tube, on chasse, en soufflant un peu, la goutte de liquide restée adhérente à la pointe effilée, et on ferme immédiatement celle-ci à la lampe d'émailleur.

Le tube se refroidit, de l'air y rentre en se filtrant, et nous avons ainsi réalisé les conditions que nous cherchions tout à l'heure. Nous avons maintenant dans notre tube, de la matière organique, de l'air et de l'eau. Ajoutons-y l'action d'une température convenable, mettons le tube à l'étuve et attendons. S

la génération spontanée est possible, rien ne lui manque pour se manifester. Or, le liquide reste indéfiniment limpide. Pas un être vivant n'y apparaît. Les germes absents, la vie reste absente. Nous retrouvons là la conclusion à laquelle nous étions arrivés tout à l'heure. Mais nous pouvons pousser plus loin notre démonstration avec la même forme d'appareils.

Pour démontrer que les poussières de l'air peuvent apporter la vie dans l'infusion stérile où on les ensemence, on prendra une autre forme de tube ne différant de celui de tout à l'heure que par un tube latéral, un peu coudé vers le bas, comme le représente la fig. 20, et qui, pendant le flambage du tube, reste fermé par un tampon de coton qui fait saillie à l'extérieur. On introduit dans ce tube l'infusion organique, comme à l'ordinaire, en ayant seulement le soin, pendant qu'on aspire, de fermer avec le doigt l'orifice portant le tampon de coton. Quand quelques jours de séjour à l'étuve ont montré que le liquide introduit est stérile, on fait arriver dans le coude de la tubulure latérale la bourre chargée de poussière. Pour cela, on passe l'extrémité de cette tubulure dans la flamme, on enlève le tampon de coton avec une pince flambée, on glisse, au moyen d'une autre pince, le tube renfermant la bourre, et on referme immédiatement avec le tampon de coton. Puis on passe dans la flamme la tubulure entière, assez longtemps pour qu'on ne puisse plus la toucher avec le doigt sans se brûler. La chaleur n'arrive pas jusqu'aux poussières de la bourre intérieure. On remet à l'étuve, et l'on constate qu'en présence de cette bourre, comme en son absence, l'infusion est stérile. Sans rien changer alors au contenu du tube, on fait couler la bourre dans le liquide, et l'on constate que, 24 heures après, le liquide est trouble et nourrit plusieurs espèces d'infiniment petits.


Fig. 20.

La simplicité des moyens est, comme on voit, plus grande qu'elle ne l'était tout à l'heure, sans que nous ayons sacrifié sensiblement la rigueur expérimentale. Il en résulte une telle facilité opératoire, que les tubes dont nous venons de nous servir sont devenus usuels dans la culture des infiniment petits. Mais avant d'indiquer comment ils servent à cet usage, nous avons à nous faire une idée de la façon dont les germes sont répartis dans le monde qui nous entoure : sont-ils de préférence sur les corps solides, dans les liquides ou dans l'air. De ce que nous apprendrons sur ce sujet, nous ferons sortir de nouvelles simplifications opératoires, c'est-à-dire de nouvelles causes de progrès. Complétons d'abord la démonstration à laquelle est consacré ce chapitre.

Expériences de M. Tyndall. — Les détails dans lesquels nous venons d'entrer sont évidemment suffisants pour permettre d'asseoir une conviction sérieuse. Mais en pareille matière, on ne saurait trop multiplier les preuves, et trop se plier à la diversité des esprits. Pour un savant qui veut seulement savoir ce qui est, et qui élève assez haut l'objet de sa recherche et le calme de sa pensée pour ne pas se laisser troubler ou aveugler par des préjugés inconscients ou des croyances de secte, nous en avons dit assez. Mais c'est à la fois l'honneur et le danger de cette question des générations spontanées qu'on l'aborde presque toujours avec des préventions extrascientifiques, qu'on ne la voit guère qu'au travers de l'appui qu'elle prête ou refuse à certaines opinions philosophiques, et ce sont précisément les esprits qui attachent le plus d'importance à ce côté de la question qui se montrent, par nature et sans le vouloir, les plus rebelles aux démonstrations expérimentales.

Aussi n'est-il pas inutile d'indiquer ici un autre moyen d'établir, sous une forme non plus probante que la précédente, mais plus saisissante, cette corrélation entre l'existence des poussières dans l'air et les propriétés fécondantes de cet air. Pour cela, M. Tyndall fait passer au travers de l'air ordinaire un puissant faisceau de rayons lumineux empruntés, soit au soleil, soit à une lampe électrique. On voit danser dans ce faisceau les corpuscules que tout le monde a pu observer dans un rayon de soleil pénétrant dans une chambre obscure ; mais ils sont ici plus puissamment éclairés, et le faisceau lumineux, dont la marche est parfaitement visible, semble se propager au travers d'une sorte de brouillard brillant. Répétons la même expérience avec de l'air filtré sur du coton; les contours du rayon lumineux sont devenus presque invisibles, parce qu'il ne trouve rien à éclairer sur son passage. Ce contraste entre l'air ordinaire et l'air *optiquement* pur peut être rendu plus frappant, si l'on dispose sur un point de la trajectoire du rayon une flamme quelconque, par exemple celle d'une lampe à alcool, en s'arrangeant de façon à faire couper le faisceau par le courant de gaz chauds qui se dégagent de la flamme. Sur tout le trajet qu'ils parcourent, la trace lumineuse du faisceau est brusquement interrompue, parce que ces gaz ne renferment pas de matières solides; celles qui pouvaient y provenir de l'air ont été brûlées et ont disparu, et l'obscurité succédant sur ces points à la lumière, on croirait voir une épaisse fumée noire traverser l'espace fortement éclairé. Notons en passant que l'on peut obtenir la même extinction en envoyant en un point du faisceau l'air qui sort des poumons. Les premières portions expirées sont de l'air ordinaire, mais la région où elles ont passé devient peu à peu moins brillante, et, à la fin de l'expiration, elle est tout à fait obscure. Ceci prouve que l'air qui provient des profondeurs du poumon est optiquement pur et a dû y laisser les germes qu'il tenait en suspension. Nous aurons bientôt à nous souvenir de ce fait.

Prenons maintenant, comme le fait M. Tyndall, une chambre en bois de dimensions quelconques (fig. 21), bien close, portant sur quatre faces opposées des glaces qui permettent de la faire traverser par un faisceau lumineux. Sa base inférieure est percée de trous par où passent, retenus par de bons bouchons, des tubes à essai *a*, *a* qui sont d'abord vides. Sa base supérieure porte en son centre une ouverture sur laquelle se trouve lié, au moyen d'un manchon

un peu lâche de caoutchouc, un tube à entonnoir assez long pour que son extrémité inférieure effilée puisse, grâce à l'élasticité du manchon, être amenée à l'orifice de chacun des tubes à essai. Deux tubulures latérales portent, si l'on veut, deux tubes de verre recourbés, et obstrués à leur extrémité ouverte par des tampons de coton.

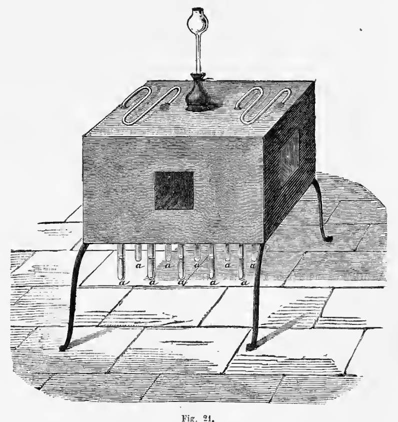


Fig. 21.

On a, au préalable, enduit les parois intérieures de cette chambre, ou même seulement son fond, d'une couche gluante de glycérine. Au moment où on la ferme, l'air qu'elle contient, se montre, sous l'action du faisceau solaire qu'on y lance, aussi lumineux que l'air extérieur. Mais, peu à peu, la chambre étant bien close, les poussières tombent et s'attachent à la glycérine, de sorte qu'au bout de quelques jours, l'air y devient optiquement pur. Il renferme alors, évidemment, tout ce qu'il renfermait alors : tous ses gaz, toutes ses vapeurs, tous ses *miasmes*, tous ses éléments connus et inconnus, tout ce qu'on voudra, sauf les matières solides qu'il tenait en suspension. Il s'y renouvelle librement par les deux tubes de la partie supérieure, qui n'arrêtent que la circulation des poussières.

On fait alors arriver dans les tubes à essai, au moyen du tube à entonnoir,

diverses infusions organiques presque bouillantes. Puis, en chauffant chacun des tubes avec une lampe à alcool, ou tous les tubes à la fois dans un bain de chlorure de calcium, on fait bouillir quelques instants le liquide organique, et on laisse ensuite le tout en repos. Ces infusions sont alors exactement dans la même condition que si elles étaient exposées à l'air dans une chambre ou un laboratoire. Mais ici l'air de cette chambre est pur de poussières, et les infusions restent indéfiniment stériles.

Expériences des ballons à col sinueux. — Cette expérience de M. Tyndall est la reproduction en grand, et dans des conditions particulièrement démonstratives, d'une série d'expériences instituée par M. Pasteur, et qui ramène, sous une forme plus synthétique, aux mêmes conclusions que celles que nous avons déjà rencontrées.

M. Pasteur place dans un ballon de verre une infusion très altérable, telle que de l'urine ou une décoction filtrée de levure, et étire ensuite à la lampe le col du ballon en le tordant en forme d'S (fig. 22), ou en lui donnant une forme

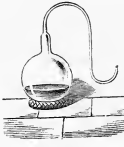


Fig. 22.

sinueuse quelconque. Il porte alors à l'ébullition le liquide intérieur, jusqu'à ce que la vapeur vienne sortir par le tube effilé, puis il laisse refroidir. Aucune production ne prend naissance dans un ballon ainsi préparé. L'air intérieur est pourtant en libre communication avec l'air extérieur, s'y mélange constamment par suite des phénomènes de diffusion, des variations de pression, de température; on ne peut rien supposer dans l'un qui n'existe dans l'autre, rien, sauf que dans l'un il existe des poussières vivantes, et que de l'autre il n'y en a pas. La vapeur a tué toutes celles qui auraient pu se trouver dans le ballon à l'origine. Quand on a arrêté l'ébullition, l'air extérieur est rentré avec force, mais a rencontré un liquide encore très chaud qui a tué les germes vivants. Quand le liquide est plus froid, la rentrée de l'air devient assez lente pour qu'il abandonne dans les courbures humides du col, et dans les sinuosités du tube étroit qu'il a à parcourir, les poussières capables d'agir sur l'infusion. Quand tout est revenu à la température ordinaire, il ne peut plus y avoir, à proprement parler, dans le col effilé, de courant d'air capable d'entraîner les germes, et le ballon reste inaltéré. Fermons alors, pour faire une contre-expérience ingénieuse dont l'idée est due à M. Balard, l'extrémité ouverte à la lampe, amenons dans le col une goutte de liquide intérieur qui en

lave les parois, et mélangeons cette goutte avec le reste : nous verrons apparaître dans le ballon les mêmes productions que si nous l'avions laissé exposé à la chute des poussières de l'air. La *faculté génésique* de la liqueur n'était donc pas atteinte, et on ne peut objecter à cette expérience l'influence nuisible de l'air confiné, puisque notre ballon se montre fécond lorsqu'il est clos, tandis qu'il était stérile lorsqu'il s'ouvrait dans l'air extérieur.

Notre conclusion est donc toujours la même. Pourtant, on pourrait objecter à toutes les expériences qui précèdent qu'on a toujours opéré sur des liquides bouillis. Or, ces liquides abandonnés à l'air se peuplent plus difficilement que les autres. Peut-être cela tient-il à ce qu'ils sont plus réfractaires à l'organisation spontanée de la matière morte, et, dans ce cas, rien ne prouve que, si l'on n'obtient aucun résultat avec eux, on ne serait pas plus heureux avec des liquides mieux appropriés.

Si peu définie que soit cette objection, il est utile de montrer qu'elle ne repose sur aucune base solide. Pour cela, M. Pasteur a cherché où il pourrait trouver un liquide privé de germes, et il a songé à ceux qu'on rencontre dans l'intérieur des animaux ou des végétaux. Comment comprendre, en effet, que les liquides de l'organisme sain, le sang, l'urine, le lait, le jus d'un grain de raisin intact, renferment des germes? Allons donc puiser ces liquides par un moyen qui éloigne l'influence de l'air extérieur, et, s'ils sont réellement privés de germes, ils pourront être exposés impunément au contact de l'air pur.

Procédés pour recueillir les liquides de l'organisme. — M. Pasteur s'est servi dans ses premières expériences d'un ballon de verre joint à un robinet de laiton par un tube de caoutchouc, comme l'indique la figure 23. — Les deux branches du robinet ont environ 15 centimètres, celle

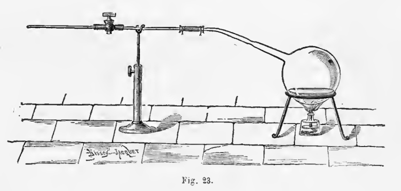


Fig. 23.

qui est libre est un peu effilée, comme l'extrémité d'une canule. Afin de purger ce ballon de tout germe intérieur, on l'adapte, comme nous avons déjà appris à le faire, à un tube de platine chauffé dans un fourneau à gaz (fig. 24), après avoir eu la précaution d'introduire dans le ballon une petite quantité d'eau. Pour des raisons que nous apprendrons à connaître plus tard, il est prudent de faire bouillir celle-ci à une température supérieure à 100°. Pour cela on adapte

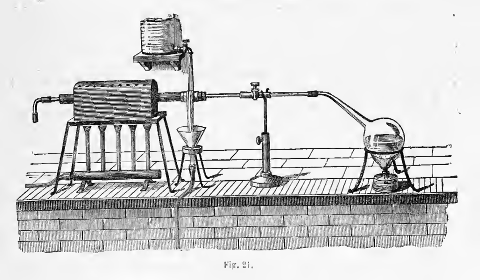


Fig. 24.

à l'extrémité du tube de platine un tube de verre recourbé à angle droit, qui peut se relier au moyen d'un caoutchouc à un tube de verre plongeant plus ou moins dans une cuvette profonde remplie de mercure (fig. 25).

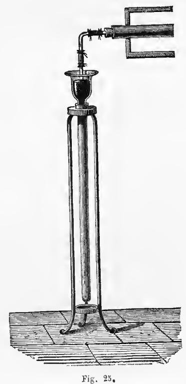


Fig. 25.

On met l'eau en ébullition. La vapeur surchauffée détruit tout ce qu'il pourrait y avoir de vivant dans le ballon et le conduit du robinet. Pendant que l'eau bout, on sépare le tube qui plonge dans le mercure. L'eau continue à bouillir dans le ballon à la pression ordinaire. On laisse refroidir, alors il rentre de l'air calciné, et on ferme le robinet quand la température du ballon est encore de quelques degrés supérieure à la température ambiante. Par cette précaution, l'air intérieur se trouve à une pression un peu moindre que la pression extérieure.

Dans l'intervalle de temps qui sépare la préparation du ballon du moment où l'on s'en sert, il est bon de tenir la branche libre du robinet inclinée vers le bas, afin de garantir l'intérieur de son canal contre les poussières extérieures. Dans tous les cas, au moment de mettre le ballon en expérience, il faudra chauffer cette branche à l'aide d'une lampe à alcool.

S'il s'agit d'étudier le sang, on met à nu la veine ou l'artère d'un animal, d'un chien, par exemple, on y fait une incision dans laquelle on insère la branche libre du robinet, préalablement flambée et refroidie, on passe une ligature, et on ouvre le robinet. Le sang coule dans le ballon, poussé par la pression artérielle et appelé par la différence de pression de l'air intérieur. On ferme le robinet, et l'on porte le ballon à l'étuve.

Pour l'urine, on introduit l'extrémité du robinet dans le canal de l'urètre, qu'on a, au préalable, nettoyé à l'aide d'une mixtion rapide de quelques centimètres cubes de liquide. Puis on continue comme tout à l'heure.

On peut simplifier les appareils et le manuel opératoire en se servant du tube représenté fig. 26, où on reconnaît un tube Pasteur dont la tubulure latérale est droite, et porte à son extrémité une effilure avec un petit renflement oli-

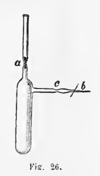


Fig. 26.

vaire. Ce tube est d'abord flambé, et l'on en introduit alors l'extrémité effilée, après l'avoir brisée, arrondie dans la flamme, puis légèrement flambée, soit dans une veine, soit dans le canal de l'urètre. L'air s'échappe par la tubulure supérieure, au travers du tampon de coton, et le liquide pénètre sans difficulté. Il est aussi très facile, avec cet appareil, dont on recourbe vers le haut, s'il le faut, la tubulure latérale, d'aller puiser le lait dans la mamelle d'une chèvre ou d'une vache. On peut enfin, plus simplement pour ce dernier cas, insérer dans le trayon un de ces petits tubes d'argent qu'on appelle *trait-vaches*, et qui laissent le lait couler librement; on flambe ce tube avant de l'introduire, on laisse

écouler les premières portions de lait, et l'on recueille les dernières dans un vase flambé de forme quelconque.

Tous ces procédés n'ont pas la sûreté d'allures de celui qu'a mis en œuvre M. Pasteur; les mécomptes sont plus fréquents, et, à raison de cette incertitude, on ne pourrait que difficilement les employer pour fonder un point de la science. Dans des matières aussi délicates, il faut pour cela des moyens qui ne prêtent pas à l'équivoque, et dont l'emploi soit certain. Mais maintenant que la science est faite, on peut les employer, parce qu'ils sont d'une manipulation beaucoup plus facile, et qu'en s'exerçant un peu, on peut les rendre sûrs.

Voici maintenant les résultats auxquels on arrive.

Le sang ne se putréfie pas, même aux plus hautes températures de l'atmosphère. Son odeur reste celle du sang frais ou prend un parfum de lessive. Il s'oxyde un peu. Après une exposition des ballons dans une étuve à 25° ou 30° pendant plusieurs semaines, on observe une absorption de 2 à 3 p. 100 de gaz oxygène, lequel est remplacé par un volume égal d'acide carbonique. Cette lenteur d'oxydation dans un liquide si éminemment altérable est une confirmation éclatante de ce que nous disions, en commençant, sur l'impuissance de l'oxygène de l'air à oxyder la matière organique, lorsqu'il est seul à son contact.

Dans ce sang, surtout s'il provient d'un chien, on observe bientôt un phénomène curieux. Le sérum se colore peu à peu en brun foncé. Au fur et à mesure que cet effet se produit, les globules du sang disparaissent, et le sérum et le caillot se remplissent de *cristaux du sang* teints en brun ou en rouge, en si grande quantité que chaque goutte de sérum en renferme par milliers, et que chaque fragment de caillot montre de la fibrine incolore et très élastique, criblée d'aiguilles cristallines. On ne trouve trace nulle part de globules, ni de la membrane de constitution différente que l'on suppose, un peu à la légère, exister autour d'eux.

L'urine se colore en brun, elle dépose des cristaux en quantité plus ou moins grande, elle ne se trouble ni ne se putréfie en aucune façon. L'oxydation directe de ses matériaux est également très faible. Après 40 jours, l'analyse de l'air d'un ballon a fourni :

Oxygène.	19,2
Acide carbonique.	0,8
Azote.	80,0
	100,0

Le lait laisse d'abord remonter sa crème. Puis la couche inférieure, tout en restant liquide et opaque, devient très nettement hétérogène; ses parties supérieures, au-dessous de la couche de crème, prennent un assez haut degré de transparence laiteuse ou plutôt cornée. Un peu blanc-bleuâtres par réflexion, elles sont rougeâtres par transmission. L'opacité augmente avec la profondeur, et, à la partie inférieure, il y a comme un dépôt flottant de matière amorphe. Tout se passe comme si le lait renfermait une sorte de précipité en suspension, qui se réunirait peu à peu au fond du vase. Dans la partie la plus déclive, on trouve toujours un peu de phosphate de chaux.

La portion opaque et la portion transparente restent coagulables par la présure. Nous aurons plus tard à nous souvenir de ce fait. Quant à la crème, en se

rapportant aux phénomènes d'oxydation que présentent si facilement à l'air les matières grasses, on pourrait croire qu'elle absorbe l'oxygène et rancit très rapidement. Il n'en est rien. Elle prend un goût un peu suiffeux, mais ne s'acidifie guère, et n'a subi, au bout de deux ans, dans quelques-unes de mes expériences, qu'une saponification insensible. L'air laissé dans le vase n'a perdu, au bout de ce temps, qu'une très-faible partie de son oxygène.

Voici le résultat de l'analyse de l'air d'un ballon qui avait séjourné 40 jours à l'étuve.

Oxygène	18,37
Acide carbonique	0,16
Azote	81,47
	100,00

Voilà donc, en résumé, deux liquides éminemment putrescibles, non chauffés, pris dans leur état naturel, et restant inaltérés au contact de l'air. On peut considérer ces belles expériences comme le couronnement du faisceau de preuves que nous avons réunies jusqu'ici contre la génération spontanée. Concluons donc qu'elle est une chimère, et que ceux qui ont cru démontrer son existence ont été victimes d'une illusion. Partout où ils ont cru voir la vie apparaître d'elle-même, c'est qu'ils avaient laissé pénétrer, à leur insu, quelques-uns de ces germes insaisissables que l'air promène partout, qu'il dépose sur tous les corps qu'il rencontre, et dont nous venons d'apprendre à nous débarrasser à volonté.

BIBLIOGRAPHIE

Aristote. — *Opera omnia. Meteorol. Lib. de Cælo*, chap. II et XII. — *Histoire des animaux. Traité de la génération.*

Redi. — *Experienzi intorno alla generazione degli insetti*, Florence, 1688.

— *Osservationi intorno animali viventi che si trovano negli animali viventi*, 1681.

Vallisnieri. — *Dialoghi fra Malpighi e Plinio, intorno la curiosa origine di molti insetti.* Venise, 1700.

— *Considerazioni ed esperienze intorno alle generazione dei vermi ordinari del corpo umano.* Padoue, 1710.

Swammerdam. — *Biblia naturæ, seu natura insectorum.* Leyde, 1737.

Leuvenhoeck. — *Arcana naturæ detecta. Delphis Batavorum*, 1680.

Needham. — Nouvelles découvertes faites avec le microscope. Leyde, 1737.

— Notes sur les nouvelles découvertes microscopiques de Spallanzani.

— Nouvelles recherches physiques et mathématiques sur la nature. Paris, 1768.

Buffon. — Œuvres complètes, t. II.

Spallanzani. — Opuscules de physique animale et végétale. Pavie, 1787.

— Observations et expériences sur les animalcules.

Schultze. — *Annales de Poggendorff*, 1836. — *Notice on the result of an experimental observation made regarding equivocal generation.* Traduit dans les *Ann. des sc. nat.*, 2e s. Zoologie, t. VIII, p. 320.

Schwann. — *Ann. de Poggendorff*, t. XLI, 1837.

Helmhottz. — *Journal für Prakt. Chemie*, t. XXXI, p. 429, 1843.

Schröder et Van Dusch. — *Ann. der chemie und pharmacie*, t. LXXXIX, p. 232, 1854.

Pouchet. *Hétérogénie*, ou *Traité de la génération spontanée.* Paris, J.-B. Baillière, 1859.

Pasteur. — Examen de la doctrine des générations spontanées. *Annales de chimie et de physique*, 3e s., t. LXIV, 1882.

Discussions relatives à la génération spontanée. Voir *passim. Comptes rendus*, depuis 1863.

CHAPITRE V

RÉPARTITION GÉNÉRALE DES GERMES DANS L'AIR

Maintenant que nous savons préparer des infusions qui restent stériles, nous pouvons nous en servir pour étudier la distribution des germes autour de nous, dans les corps solides, liquides et gazeux, avec lesquels nous sommes en contact. Il nous suffira d'amener au contact d'un de nos liquides restés limpides une portion plus ou moins grande de l'un de ces corps. Si l'infusion se trouble, c'est que le corps étudié renfermait des germes, et il en renfermera, toutes choses égales d'ailleurs, d'autant plus, qu'il faudra en employer moins pour apporter la vie dans le liquide organique où on l'ensemence.

Il est naturel de commencer cette étude par l'air, véhicule de toutes les poussières amassées à la surface du globe, parmi lesquelles il est évidemment impossible qu'il n'y ait pas de germes de ces êtres que nous savons se développer en si infinies multitudes, toutes les fois que de la matière organique se corrompt ou se putréfie au contact de l'eau et de l'air. Il suffit, en effet, d'enlever le coton qui ferme le col d'un de nos tubes Pasteur, ou mieux d'en détacher, sans l'agiter, le col au moyen d'un trait de lime, pour voir, au bout de quelques heures d'étuve, l'infusion limpide qu'il renferme se troubler et se peupler comme si elle n'avait pas été stérilisée.

Qu'a-t-il fallu pour cela? Rien autre chose n'est intervenu que de l'air nouveau, pris dans son état naturel. Il y avait dans notre tube, lorsqu'il était fermé par son tampon de coton, tout ce qu'il y a maintenant, oxygène, azote, ozone, acide carbonique, matières gazeuses connues ou inconnues, tout, sauf les poussières atmosphériques. Le tampon enlevé, le col brisé, celles-ci sont tombées dans le liquide et, si elles l'ont fécondé, c'est qu'elles renfermaient des germes vivants.

On peut donner une autre preuve bien frappante de la vérité de cette interprétation. Établissons une libre communication avec l'air extérieur, non plus en brisant la tubulure verticale, mais en cassant l'extrémité effilée de la tubulure latérale. L'intérieur du tube est de nouveau en contact direct avec l'air chargé de poussières. Mais celles-ci ne peuvent plus, comme tout à l'heure, tomber dans le liquide en vertu de leur propre poids. Pour arriver à lui, elles devraient s'élever le long de l'effilure, et c'est ce qu'elles ne font pas, à moins

qu'il n'y ait des courants d'air, des échauffements ou des refroidissements brusques du tube, produisant une circulation aérienne active entre les deux ouvertures qu'il porte maintenant. Le liquide, maintenu en repos, reste infécond, du moment qu'il ne reçoit pas la poussière vivante qui lui arrivait naturellement tout à l'heure. C'est l'équivalent des expériences dans les ballons à col sinueux dont nous avons parlé au chapitre précédent.

Il y a donc des germes vivants dans l'air. Y en a-t-il beaucoup? Pour le savoir, nous pourrions employer le dispositif qui vient de nous servir. Mais il vaut mieux avoir recours à une méthode permettant de mettre en expérience des volumes d'air plus notables.

Expériences de M. Pasteur. — Dans le ballon A (fig. 27), de 300 à 400

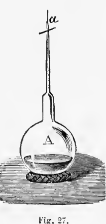


Fig. 27.

centimètres cubes de capacité, on introduit 100 centimètres cubes environ d'une infusion organique limpide. Puis, on effile le col du ballon en le laissant ouvert.

On porte l'infusion à l'ébullition, et lorsque la vapeur qui se dégage a chassé tout l'air intérieur par l'extrémité *a*, on ferme celle-ci en fondant brusquement le verre au moyen d'une lampe d'émailleur. Le ballon se refroidit et reste vide d'air. On en prépare quelques douzaines de tout pareils.

On les apporte alors au lieu où on veut faire l'expérience, et on y brise successivement tous les cols à l'aide d'une pince à longues branches, après avoir eu la précaution, à chaque fois, de passer le col et la pince dans la flamme d'une lampe à alcool, pour tuer tous les germes de provenance incertaine qui auraient pu s'y déposer. Il faut, en outre, prendre le ballon par la panse, et le tenir aussi élevé que possible au devant de soi, mais non au-dessus de sa tête, de façon à éviter l'influence de la poussière des mains ou des vêtements, et celle des courants d'air qui montent verticalement au-dessus du corps de l'opérateur. Enfin, s'il fait du vent, il est bon de se tenir sous le vent du ballon, de façon à éviter les mêmes causes d'erreur. Le col brisé en *a*, on entend un sifflement : c'est l'air qui rentre. On referme aussitôt l'effilure à la lampe, et quand tout est terminé, on reporte les ballons à l'étuve pour voir ce qui va s'y passer.

Chacun d'eux renferme, sans erreur possible, un volume déterminé d'air, absolument tel qu'il était au lieu d'observation, et dont les poussières, grâce au repos absolu qui existe désormais à l'intérieur du ballon, vont tomber dans le liquide. Si ce volume d'air ne renferme pas de germes, l'infusion restera stérile. Elle se troublera, au contraire, si l'air lui a apporté des germes qu'elle puisse nourrir. Le nombre des ballons restés inféconds sera donc d'autant plus grand que l'air sera plus pur de germes, et en répétant l'expérience en divers lieux, dans les mêmes conditions et avec le même liquide, on pourra comparer en toute sûreté les airs qu'on y respire.

M. Pasteur a beaucoup fait d'expériences de cette nature et est toujours arrivé aux mêmes résultats généraux. Presque toujours, on voit dans quelques ballons la liqueur s'altérer, et présenter au microscope les êtres les plus variés d'un ballon à l'autre, bien que tout soit identique en apparence partout. Ces êtres sont même plus variés, nous verrons tout à l'heure pourquoi, surtout en ce qui regarde les mucédinées et les torulacées, que si les liqueurs avaient été exposées à l'air ordinaire. Il y a donc en suspension dans l'air des germes de diverse nature, qui, entraînés dans le ballon par la rentrée du gaz, ont pu, grâce au repos qu'ils y ont trouvé, tomber dans le liquide et le féconder.

Mais, d'autre part, il arrive fréquemment, et plusieurs fois dans chaque série d'essais, que la liqueur reste absolument intacte et limpide, quelle que soit la durée de son exposition à l'étuve, absolument comme si elle avait reçu de l'air calciné.

Donc, si l'air contient des germes, il n'en contient pas partout, et il est toujours possible de prélever, dans un lieu et à un moment donnés, un volume assez notable d'air ordinaire, de 100 centimètres cubes, par exemple, n'ayant subi aucune altération physique ni chimique, et néanmoins tout à fait incapable de donner naissance à des infusoires ou à des mucédinées dans une liqueur qui en donne très vite au libre contact de l'air, et en a donné dans les ballons qui se sont altérés, tout à côté des ballons restés intacts.

Cette inégalité dans la distribution des germes ne peut avoir que deux causes. Elle tient soit à ce que les germes sont rares dans l'air, soit à ce qu'ils y sont inégalement distribués, soit aux deux causes réunies. Nous allons retrouver tout à l'heure la discussion de cette question. Pour le moment, nous pouvons tirer tout de suite, de ce que nous venons d'apprendre, une conclusion, c'est que les airs prélevés en divers lieux, étudiés au moyen de la méthode que nous venons de faire connaître, ne se montreront sans doute pas pareils, et féconderont une proportion de ballons différente suivant leur provenance.

Ainsi de l'air pris dans des caves profondes, comme celles de l'Observatoire de Paris, où la température est constante, et où l'on ne pénètre que très rarement, doit, au cas où il aurait un jour contenu des germes, les avoir laissés déposer avec ses poussières à la surface du sol, de sorte que les ballons de prise d'air, qu'on ira y ouvrir avec des précautions convenables, se montreront stériles en plus forte proportion que ceux qu'on ouvrira dans la cour du même observatoire. C'est, en effet, ce qui arrive. Sur dix ballons ouverts dans les caves, un seul s'est altéré et a montré une production végétale. Onze ballons, ouverts en même temps dans la cour, se sont peuplés d'infusoires ou de végétaux de genres divers.

De même on doit présumer *a priori* que les infusoires exigeant tous, pour se reproduire et se multiplier, de certaines conditions de chaleur et d'humidité, l'air se montrera d'autant plus pur qu'il sera puisé dans des régions où ces conditions de chaleur et d'humidité font davantage défaut, qu'il sera plus pauvre en germes sur un coteau que dans la plaine, sur une montagne que sur un coteau, sur la neige que sur un sol fertile.

M. Pasteur a ouvert vingt ballons en pleine campagne, assez loin de toute habitation, au pied des hauteurs qui forment le premier plateau du Jura. Sur les vingt, huit se sont altérés.

Vingt autres ballons ont été ouverts sur le mont Poupet, à 850 mètres au-dessus du niveau de la mer. Cinq seulement ont montré des productions organisées.

Enfin, une autre série de vingt de ces mêmes ballons a été portée au Montanvert, près de la Mer de glace, à près de 2,000 mètres d'élévation, et ouverte par un vent assez fort, soufflant des gorges les plus profondes du glacier des Bois. Un seul s'est altéré.

Dans des expériences faites pour contrôler l'exactitude des résultats qui précèdent, et qui avaient été contestés, une commission de l'Académie des Sciences, ayant Balard pour rapporteur, a observé des faits pareils. Sur dix-neuf ballons ouverts sur les gradins du grand amphithéâtre du Muséum, cinq ont donné des mucédinées.

Sur dix-neuf autres ouverts à l'extérieur, sur le point le plus élevé du dôme de l'amphithéâtre, par un vent assez fort, venant du côté de Paris, six ont donné naissance à des êtres vivants.

Enfin, sur dix-huit ballons ouverts et fermés à Bellevue, dans le jardin de la maison de M. Dumas, au milieu d'un gazon, sous un massif de grands peupliers, et à la nuit tombante, deux seulement sont restés inaltérés.

Beaucoup d'autres expériences de même nature ont été faites. Celles-ci suffisent pour montrer combien est variable la distribution des germes dans l'air. Hippocrate a écrit un traité *Des airs, des eaux et des lieux.* Le perfectionnement des procédés eudiométriques, en montrant que l'air avait partout la même composition, avait conduit, à une certaine époque, les savants à parler de l'air au singulier, comme de quelque chose ayant des propriétés immuables. Voilà que nous sommes obligés de revenir à la conception hippocratique, en découvrant que des airs peuvent se ressembler au point de vue chimique et être pourtant très différents entre eux.

Méthodes directes de dénombrement des germes de l'air. — On voit de plus combien il serait intéressant d'être renseigné sur ces différences. Ce serait faire une œuvre de premier ordre que de nous dire, en quantité et en qualité, ce qu'il y a de germes vivants dans l'air suivant les lieux et le moment. La beauté du problème a tenté un grand nombre d'expérimentateurs. Ce n'est faire injure à aucun d'eux que de dire qu'ils en ont à peine effleuré la solution, tant le problème est difficile.

Il me suffira, pour prouver en gros ce que j'avance et éviter ainsi toutes les critiques de détail auxquelles les procédés adoptés pourraient donner lieu, de

revenir brièvement sur les faits déjà connus de la physiologie des infiniment petits, et d'examiner quel secours et quels obstacles ils peuvent porter à notre recherche.

Pour étudier d'abord le cas le plus simple, supposons un seul germe présent dans un litre d'air. Voyons comment nous pourrons le découvrir. L'œil ne le distinguera point. Pour le voir, il faut le regarder au microscope et, pour cela, commencer par le saisir.

On peut espérer y arriver par deux moyens, en faisant barboter l'air dans une très petite quantité d'eau, ou en le lançant en très mince filet contre une surface enduite d'un liquide visqueux capable de le retenir.

Le premier moyen est absolument illusoire, si l'on se contente de faire passer l'air, même en très petites bulles, dans l'eau de lavage. Celle-ci ne fait jamais que lécher la surface des bulles, et laisse passer tout ce qui est en suspension dans leur intérieur. De l'air, chargé de farine, d'un blutoir de moulin sort d'un tube à boules encore très chargé de grains, pourtant bien plus volumineux et bien plus faciles à mouiller que le sont d'ordinaire les germes. Ce qu'il y aurait de mieux serait de faire parcourir à l'air les sinuosités d'un tube capillaire mouillé, dont les expériences de M. Pasteur dans des ballons à col effilé et recourbé, que nous avons citées plus haut, démontrent l'efficacité. Mais alors notre germe se trouverait perdu sur une surface trop considérable pour que l'examen microscopique soit possible.

Quant au procédé du jet d'air contre une surface visqueuse, bien que supérieur au précédent, il est encore d'un effet très incertain. Si mince que soit le jet, il ne s'étale pas en surface infiniment mince contre le liquide visqueux. Une portion de l'air n'arrive jamais à son contact, et rebondit, comme une veine liquide, sur les portions d'air qui le touchent. Le germe peut donc échapper. Il échappera aussi, comme nous l'avons dit, même s'il rencontre le liquide, s'il est poussé trop fort, s'il est un peu gras à sa surface, ce qui arrive toujours aux corps restés longtemps en suspension dans l'air. L'expérience montre, en effet, que l'air qui a déposé une partie de ses poussières sur une première plaque visqueuse, peut en laisser sur une seconde, sur une troisième, ainsi de suite, et il ne sert à rien de montrer que les quantités qu'il abandonne ainsi successivement sont décroissantes, s'il y a des poussières qui, par leur nature, sont incapables de se fixer par ce procédé. L'air se débarrasse ainsi de mieux en mieux de ce qu'il peut laisser dans le liquide visqueux, mais emporte à chaque fois tout ce qui ne peut s'y attacher. Or, rien ne dit dans quel rapport se trouvent mélangées ces deux sortes d'éléments.

Supposons pourtant notre germe retenu par le liquide visqueux. S'il était isolé, rien ne serait plus facile que de l'apercevoir, à l'aide d'une exploration méthodique du liquide. Il ne faut pour cela que du temps et de la patience, deux choses qui n'ont jamais manqué aux observateurs. Mais combien de causes peuvent rendre ce germe invisible !

Il y a d'abord sa ténuité, qui s'accompagne presque toujours de l'absence de tout caractère morphologique marqué. On peut défier le plus habile micrographe de distinguer d'une granulation amorphe telle ou telle spore d'un de ces vibrions que nous trouverons, par exemple, parmi les ferments du lait, et

dont les dimensions varient entre $\frac{1}{1200}$ et $\frac{1}{1500}$ de millimètre. Je ne voudrais pas, au moins, me charger de le faire, et il y a cinq ans que je cultive, d'une façon à peu près continue, ces espèces d'infiniment petits. Que sera-ce donc si ce germe, déjà si peu visible par lui-même, n'est pas isolé, se trouve accolé à une masse un peu plus grosse et irrégulière, fait partie d'un amas de poussière plus volumineux. Il faut se résigner à laisser échapper, quand on examine les poussières de l'air, toutes les spores plus petites que $\frac{1}{1000}$ ou même que $\frac{1}{500}$ de millimètre, et malheureusement ce sont de beaucoup les plus nombreuses. On le croira facilement si l'on songe qu'à raison de leur petitesse, les êtres qui donnent ces spores sont ceux qui s'accommodent le mieux des infusions peu concentrées, qui sont les plus abondantes à la surface du globe. Pour une macération véritable de matière organique, il y a par milliers des flaques d'eau dormante sur le sol, ou, sur les végétaux, des dépôts de pluie ou de rosée, où vivent souvent par millions les êtres les plus petits de la création. Les germes de ceux-ci doivent évidemment être infiniment plus abondants que ceux des espèces supérieures, qui sont plus difficiles sur le choix de leur terrain, et nous avons vu qu'ils échappent en totalité au regard de l'investigateur.

Ce qu'on peut voir et ce qu'on voit, en effet, ce sont les germes des plus gros des vibrions, les spores des cryptogames les plus élevés en organisation ; mais, de leur nombre et de leur diffusion, on ne peut rien conclure au sujet d'espèces plus petites, si ce n'est qu'il y a peut-être cent de ces dernières-là où on ne voit qu'une des premières.

En admettant, enfin, qu'on arrive à tout voir, on ne serait guère plus avancé. Il faudrait bien, en effet, se garder de considérer comme vivants tous les germes organisés qu'on peut rencontrer dans l'atmosphère. Ce que nous apprendrons sur l'action de l'oxygène, et sur la destruction de vitalité qu'il amène plus ou moins rapidement sur les êtres ou les germes largement exposés à son contact, témoigne que beaucoup des germes en suspension dans l'air doivent y périr rapidement. J'ai constaté directement ce résultat pour les spores de mucédinées par la méthode décrite page 48, en ensemençant les poussières de l'air dans une goutte d'un liquide nutritif acidulé, minéralisé et sucré, placé dans la petite cuve de brai de la fig. 15.

Chaque cuve renferme à l'origine un grand nombre de corpuscules. Mais tous ne se développent pas. Dans une petite cuve de 10 millimètres carrés de surface, on n'a généralement, sur une quarantaine de corpuscules, que de deux à six végétations dont on peut voir l'origine et suivre le développement.

En changeant, par les procédés indiqués p. 49, la nature du liquide nutritif dans la même cuve, on ne voit guère apparaître de nouvelles germinations. Presque toutes les mucédinées s'accommodent du liquide acidulé et sucré qui vient de servir, et ces espèces végétales aérobies sont, en général, bien moins difficiles sur leur alimentation que les espèces anaérobies. On dépasse certainement la limite en affirmant qu'il n'y a pas plus de 20 p. 100 de spores vivantes dans celles qui sont en suspension dans l'air. Notons que les spores, dans l'air, sont pourtant dans leur milieu naturel.

Méthodes par ensemencement dans un liquide nutritif. — Il y aurait un moyen de supprimer toutes ces incertitudes. Si nous revenons au germe unique que nous avons supposé présent dans un litre d'air, il suffirait, comme nous venons de le voir, de l'ensemencer dans un liquide approprié, pour savoir s'il est encore vivant, et pour le rendre visible et saisissable par suite de sa multiplication presque indéfinie. Examinons de près ce procédé, qui a été, en effet, proposé et employé, pour savoir qu'elle est sa valeur.

Supposons ce germe entrant dans un des ballons Pasteur que nous savons préparer, et venant au contact du liquide. Se développera-t-il nécessairement lors même qu'il serait vivant? Nous savons déjà que non.

Il peut d'abord appartenir à la catégorie des êtres que ce liquide ne peut nourrir, parce qu'il ne contient pas les éléments nécessaires pour cela. Nous savons que, quelle que soit la complexité de composition d'un liquide nutritif, il ne peut alimenter toutes les espèces de ferments. Les ferments de sucre ne sont pas nécessairement des ferments de l'amidon, ou des ferments de la caséine, etc. Bien mieux, les êtres qui vivent dans l'urine ne peuvent pas toujours se développer dans du bouillon. Voilà une première cause d'insuccès qui peut faire croire à l'absence ou à la mort du germe, alors qu'il est réellement vivant.

Le liquide serait-il très propre, par les éléments qu'il renferme, à nourrir le microbe né de notre spore, que celle-ci pourrait bien, nous l'avons vu, ne pas se développer et ne pas passer à l'état adulte, parce que ce premier développement, qui est une *renaissance*, exige d'ordinaire des conditions de milieu plus étroites que la vie de l'être adulte. Un petit excès d'acidité ou d'alcalinité, la présence de faibles quantités d'un poison, d'un antiseptique, peuvent empêcher la spore de germer, tout en permettant la multiplication de l'espèce.

Enfin, notre ballon Pasteur ne nourrira facilement que les espèces aérobies. Si la spore que nous y supposons entrée est anaérobie, elle pourra y rester vivante, sans subir aucun développement.

Les causes d'erreur que nous rencontrons avec notre spore unique vont se multiplier s'il entre plusieurs spores à la fois, et se multiplier plus rapidement que le nombre de ces spores elles-mêmes. On peut affirmer, en effet, qu'il y en aura, parmi elles, qui se développeront plus rapidement que les autres, soit parce que leur jeunesse est plus grande, soit parce qu'elles s'accommodent mieux des conditions qu'elles trouvent dans le ballon. Dès lors, le développement des autres en sera gêné ou accéléré. Il sera accéléré si les espèces présentes ont des besoins différents, si la première, aérobie, absorbe pour elle l'oxygène et rend ainsi la vie plus facile aux espèces anaérobies. Mais s'il y a deux espèces aérobies et deux espèces anaérobies, on a grande chance, même dans ce cas très particulier, pour n'en voir se développer qu'une dans chaque camp. Toutes celles qui ont les mêmes besoins entreront en lutte, et on peut dire que si quelquefois les espèces s'entr'aident, le plus souvent elles se gênent mutuellement.

Nous avons dit, à propos de celles que nous avons vues se développer dans les expériences de M. Pasteur, que leur variété était plus grande avec ce mode d'ensemencement en ballon clos, qu'il ne le serait à l'air ordinaire avec la même

liqueur. C'est qu'en limitant le volume d'air, en ne mettant en contact avec le liquide qu'un nombre limité de germes, en répartissant ceux-ci dans des matras différents, on les laisse plus libres de leur développement, et on a plus de chance de les saisir avec la variété qu'ils présentent; c'est ainsi que le penicillium glaucum, dont les spores sont très vivaces et qui est peut-être la plus répandue des mucédinées, se montre très souvent seule au bout de peu de jours dans les liqueurs non renfermées, et y écrase les espèces différentes, tandis que ces mêmes liqueurs, conservées en vases clos, montrent des productions très diverses.

On voit, en résumé, que les causes d'erreur, quand on emploie la méthode des ensemencements, sont au moins aussi grandes que quand on se contente de l'investigation microscopique. Est-ce à dire qu'il faille renoncer complètement à apprendre quelque chose sur le problème intéressant que nous nous sommes posé, et qui nous a conduit à cette discussion? Non, évidemment, et nous pouvons même profiter de cette discussion pour indiquer comment il faudrait diriger les expériences pour à les rendre aussi concluantes que possible.

Conditions théoriques d'une bonne méthode. — Le meilleur mode d'ensemencement, le plus direct et le plus sûr, est évidemment l'emploi des ballons Pasteur. Il faut seulement, pour éviter les incertitudes qu'ils pourraient laisser subsister, les employer dans les conditions suivantes :

1° N'introduire dans chacun d'eux, autant que possible, qu'un seul germe. On arrivera assez sûrement à ce résultat, si l'on s'arrange de façon à ce qu'il y en ait toujours une notable proportion qui restent inféconds. Si cinq ballons sur dix restent stériles, par exemple, c'est sans doute qu'il n'y avait qu'un seul germe dans ceux qui se sont peuplés. On ne comprendrait pas, en effet, que dans une matière aussi continûment brassée que l'air, la répartition des germes fût très inégale en un même point et en un même moment. Il faudra donc prendre le ballon assez petit, ou le remplir assez de liquide, pour qu'il n'y rentre qu'un volume d'air d'autant plus réduit que l'atmosphère à étudier sera plus impure, ce que quelques essais préliminaires pourront indiquer suffisamment;

2° Il faudra mettre dans les ballons des infusions de nature très diverses : eau de levure, eau de levure sucrée, infusion de foin, infusion de navets, bouillon, eau pure avec sels de potasse à acide organique et matières minérales, etc. Plus on pourra multiplier les liquides, et plus l'expérience sera concluante. A cause de la nécessité de faire au moins une vingtaine d'expériences avec chaque infusion, on se trouve conduit à multiplier le nombre des ballons, mais il n'y a nul obstacle sérieux, quand on est outillé, à en ouvrir un millier en un lieu quelconque, fût-ce même en rase campagne;

3° Dans tous ceux de ces ballons qui n'auront rien donné au contact de l'air, celui-ci devra, à l'aide d'un dispositif facile à imaginer, être remplacé par de l'acide carbonique, pour permettre aux espèces anaérobies présentes de se développer. On pourra se dispenser de faire la même opération pour les ballons qui auront donné des productions organisées, et où l'oxygène aura, par suite, plus ou moins disparu, si l'on remplit la quatrième condition suivante;

4° Les ballons qui s'altéreront seront soumis à une investigation microscopique régulière, de façon à voir s'ils renferment une espèce unique, ou s'il y en a deux qui se développent simultanément ou successivement. C'est presque toujours le premier cas qui se réalise. Les exemples sont fréquents, dans les résultats d'expériences sur ce sujet, d'êtres microscopiques bien définis, par exemple de mucédinées, qui, après avoir germé, donné un abondant mycélium, et privé l'air du ballon d'oxygène, restent indéfiniment en cet état en laissant le liquide limpide, ce qui démontre qu'elles n'ont pas été accompagnées d'une autre espèce anaérobie. On peut même affirmer que ces dernières sont plus rares dans l'air que les autres. Néanmoins, dans une étude microscopique sérieuse et complète, comme celle dont nous indiquons les conditions, il faut rechercher leur présence.

5° Enfin, il ne faudra pas se contenter de noter la forme des espèces vivantes qu'on verra naître sous ses yeux, il faudra essayer de fixer leur place dans le monde des infiniment petits, et savoir au moins à quelle substance organique elles s'attaquent, si ce sont des ferments du sucre, de l'amidon, de la cellulose ou des diverses matières albuminoïdes, si elles peuvent vivre dans l'organisme, et quels désordres elles y amènent. C'est là, on peut le dire, la partie délicate de la recherche, toutes les autres n'étant en somme qu'une besogne de manœuvre.

Les difficultés qu'on rencontrera seront grandes, parce que la science n'est pas encore très avancée sous ce rapport, mais ces difficultés disparaîtront au fur et à mesure qu'on se familiarisera avec ces études. Dores et déjà, nous avons, dans le monde des infiniment petits, de grandes divisions, caractérisées par des attributions diverses. Il serait intéressant de savoir quelle place y occuperaient les divers microbes rencontrés dans l'air.

Nos connaissances sur ce sujet sont encore bien incomplètes. Nous allons pourtant les résumer, sans entrer dans le détail des méthodes, toutes très imparfaites, qui ont servi à les obtenir. A raison de cette imperfection, les résultats ont tous un caractère contingent et ne valent que par leur comparaison mutuelle.

Premières recherches aéroscopiques. — Ehrenberg a le premier découvert dans l'air, en 1830, des spores de cryptogames et des œufs d'infusoires, et le fait fut confirmé, en 1832, par Gaultier de Claubry. En 1848, pendant l'épidémie de choléra, Ehrenberg chercha vainement dans l'air des germes de cette maladie. En 1849, les médecins anglais Swayne, Brittan et Budd crurent trouver ce germe dans des cellules en forme de tore, qu'ils rencontrèrent en abondance dans les déjections des cholériques et l'air des salles d'hôpitaux. Ces cellules sont tout à fait identiques d'aspect avec la forme cristalline que prend le carbonate de chaux dans certains liquides organiques. Quoi qu'il en soit de cette identité, les recherches faites depuis ont conduit à refuser à ces cellules toute action spécifique.

Pouchet, en 1860, essaya de récolter les germes de l'air en lançant celui-ci en mince jet sur une plaque enduite de glycérine. Il y retrouva, outre les spores de mucédinées et les œufs d'infusoires, des débris de toute sorte et des grains d'amidon.

Au travail de Pouchet succéda, en 1862, le Mémoire de M. Pasteur sur les générations spontanées, qui apportait, dans la question que nous étudions, le procédé plus correct de l'ensemencement dans les ballons vides d'air. Malheureusement les savants qui, depuis, ont cherché à élucider le problème de la distribution géographique des germes qui venait de se poser, sont revenus, pour sa solution, à des modifications du procédé de Pouchet. Le docteur Maddox, au moyen d'un aéroscope fonctionnant sous l'action du vent, ne trouva dans l'air qu'un petit nombre de germes dans lesquels il put pourtant reconnaître quarante-six variétés de cryptogames. Le docteur Douglas Cunningham, à l'aide de l'aéroscope Maddox, légèrement modifié, étudia l'air, l'atmosphère des habitations, des prisons et des égouts, le trouva riche en spores de mucédinées, pauvre en œufs d'infusoires, et ne put saisir aucune relation entre le nombre et la nature des cellules qu'il y rencontra, et la mortalité produite par les maladies épidémiques. Plus suivies et plus fécondes ont été les recherches faites à l'observatoire de Montsouris, qu'il nous reste maintenant à résumer.

Recherches faites à l'Observatoire de Montsouris. — Ces recherches ont été faites régulièrement depuis 1875, par M. Schœnhauer d'abord, par M. P. Miquel ensuite. On y a récolté les germes, dans les premières années, en envoyant l'air en mince filet sur une lamelle enduite d'un mélange de glycérine et de glucose. Nous avons vu plus haut toutes les imperfections de ce procédé, mais comme il a été appliqué dans des conditions à peu près uniformes, les nombres auxquels il a conduit sont à peu près comparables entre eux, et de leur comparaison résultent quelques notions utiles, les seules que nous possédions sur ce sujet important.

On trouve, sur la lamelle, arrêtés par le liquide gluant, des matériaux bien divers.

Comme particules minérales, on rencontre : du charbon, du silex, des sels terreux, du carbonate de chaux, du sulfate de chaux reconnaissable à sa forme cristalline; de plus, des éléments amorphes et cristallisés difficiles à reconnaître.

Comme particules organiques, on rencontre : des débris fibreux et cellulaires, des pellicules épidermiques, des fragments de trachées, des poils végétaux, des fibres de coton, de lin ou de chanvre, et des grains de pollen de toute nature. Au voisinage des villes, les grains d'amidon deviennent plus nombreux. Dans les habitations, les fragments de tissus sont plus abondants qu'en pleine campagne.

Parmi les cellules des infiniment petits, on ne peut caractériser comme telles que celles dont la dimension dépasse $\frac{1}{500}$ de millimètre, ce qui laisse de côté, comme nous l'avons vu, les plus nombreuses. En se bornant à ce degré de grandeur, et en enregistrant à chaque opération, par une exploration méthodique, le nombre de microbes déposés sur la lamelle mince, on peut essayer de dresser une statistique des germes de l'air. Les nombres que l'on obtient ainsi ne sont peut-être pas le centième des nombres réels, mais ils sont suffisamment comparables entre eux; c'est tout ce que nous pouvons leur demander pour le moment.

L'expérience montre que l'air est chargé, en toute saison, d'une quantité fort variable de germes, que leur nombre, faible en hiver, s'accroît rapidement au printemps, reste élevé en été, et décroît rapidement en automne. Voici, pour fixer les idées, un tableau donnant le nombre moyen de germes par litre pendant un an, d'octobre 1878 à septembre 1879.

		Microbes recueillis, par litre d'air.	Température moyenne.
1878. —	Octobre	18,6	11,2
	Novembre	10,9	4,7
	Décembre	3,9	0,9
1879. —	Janvier	6,6	0,1
	Février	5,6	7,2
	Mars	4,2	7,1
	Avril	8,0	8,4
	Mai	11,3	10,6
	Juin	34,0	16,2
	Juillet	43,3	16,2
	Août	24,7	18,7
	Septembre	12,2	15,0

Ces résultats se présentent sous une forme plus nette quand on les résume, en les arrangeant par saison.

		Microbes par litre.
1878. —	Automne	11,3
1879. —	Hiver	5,5
	Printemps	15,7
	Été	28,9

La moyenne générale pour cette période est de 15.4, ce qui donne 15 400 germes par mètre cube d'air. Ce chiffre, déjà assez grand, peut subir des oscillations notables. M. Miquel l'a vu descendre à 2 000 et monter à 120 000. Ce dernier chiffre a de quoi surprendre et peut sembler invraisemblable. Mais à raison du faible volume des germes, le total de matière représenté par ces nombres reste encore fort petit. 125 000 germes de deux millièmes de millimètres chacun peuvent être rangés dans un cube de un millimètre de côté, et ne pèseraient pas un milligramme.

Les oscillations journalières du chiffre des microbes donné par ce mode d'observation sont sous la dépendance de certains faits météorologiques. M. Miquel a trouvé qu'une pluie de quelque durée provoque toujours une recrudescence des microbes, et la recrudescence, au lieu de suivre de quelques jours la pluie, comme il serait naturel de s'y attendre, est très souvent simultanée. Il y a peut-être là un fait d'entraînement par la pluie, dans les couches inférieures, des germes répandus dans une grande épaisseur d'air; il y a peut-être aussi, comme nous l'avons déjà dit, une erreur expérimentale, qui tient à ce que les germes mouillés s'attachent mieux sur la glycérine que lorsqu'ils sont secs et un peu gras.

La direction du vent joue aussi un rôle. Pour Montsouris, les vents du quart

S.-O. qui viennent de l'Océan et de la rase campagne, emportent moins de germes que les vents du quart N.-E., qui ont léché le continent sur une grande surface et traversé Paris. On voit que, de ce côté, l'influence est complexe, et doit être étudiée de très près. Il faudra, pour le faire avec fruit, éviter complètement le voisinage d'une ville, et se placer au centre d'une plaine ayant une grande uniformité dans sa constitution géologique, et dans les cultures qu'elle porte.

Les recherches faites en divers lieux n'ont donné, comme il fallait s'y attendre avec un moyen aussi imparfait d'expérimentation, aucune différence appréciable dans le nombre et la nature des microbes récoltés.

Dans l'air des égouts, on a trouvé, outre des particules inorganiques, des détritus organisés, mais bien plus rares que dans l'air extérieur. Il n'y a ni fibres végétales, ni fibres textiles. En revanche, il y a des spores de cryptogames d'espèces diverses, mais moins diverses que dans l'air. Les nombres journaliers sont moins variables que dans l'air extérieur, mais ils atteignent le même niveau moyen.

Dans les salles d'hôpital, il y a beaucoup plus de débris organiques, et moins de spores de cryptogames que dans l'air extérieur. M. Pouchet y avait rencontré, avant les expériences de M. Miquel, des globules de pus. On avait même reconnu des spores des mucédinées qui produisent les maladies du cuir chevelu, dans des salles où il y avait en traitement de ces sortes d'affections. Ce qui serait plus intéressant, ce serait d'y trouver les germes plus petits auxquels on peut attribuer les maladies épidémiques. Il n'est pas douteux qu'il ne soient pas là plus fréquents qu'ailleurs. Mais aucun fait ne le démontre encore.

Étude des germes vivants. — Le premier pas que nous ayons à faire maintenant est de nous demander si tous les germes que nous venons de découvrir, en si grand nombre, par un procédé que nous savons pourtant être encore imparfait, si tous ces germes, dis-je, sont vivants. Nous avons vu que la seule méthode à suivre pour cela est de les ensemencer dans des liquides appropriés, en suivant les règles opératoires que nous avons posées plus haut. Ces règles ont été appliquées en partie par M. Miquel, dans ses expériences faites à Montsouris. Ce patient observateur s'est attaché, avec juste raison, à multiplier beaucoup les ensemencements, et à n'opérer, dans chaque expérience, que sur un volume d'air tel que la moitié des ballons ensemencés restent inféconds. On arrive ainsi, comme nous l'avons vu, à *individualiser* les cultures, et les résultats peuvent avoir quelque netteté et quelque précision.

Malheureusement, M. Miquel n'a pas multiplié assez les liquides d'ensemencement, et la liqueur qui lui a le plus servi n'est pas capable, comme il l'a reconnu lui-même plus tard, de revivifier et de nourrir, et, par conséquent, de montrer dans un volume d'air déterminé, un nombre de germes aussi considérable que d'autres infusions organiques. Celle qu'il a trouvé la plus convenable pour cet usage est le jus de veau, stérilisé à froid par un procédé assez compliqué dont nous indiquerons bientôt un équivalent plus sûr et plus pratique. Viennent ensuite : le suc de fruits, fraises et raisins, le suc de choux dilué, le sérum sanguin dilué, l'urine normale étendue, toutes ces liqueurs étant stérilisées à

froid. Puis vient le bouillon Liebig neutralisé, stérilisé par un chauffage à 100°, dont M. Miquel s'est surtout servi, et qui, d'après ses expériences exige, pour se peupler, de dix à quinze fois plus d'air que le jus de veau, lequel, lui-même, ne fournit peut-être pas l'infusion la plus altérable. En attendant que les efforts persévérants de M. Miquel l'aient conduit à approcher de plus près la solution du problème, nous allons indiquer le sens général des résultats obtenus avec le bouillon Liebig. Ces résultats sont tous inférieurs à la réalité d'une quantité encore impossible à apprécier, et qui n'est peut-être pas la même aux diverses époques et pour les diverses espèces de germes, mais sous cette réserve expresse au sujet de leur comparabilité, ils sont bons à citer dans leurs traits généraux.

M. Miquel s'est surtout attaché à dénombrer dans l'air les espèces vivantes, appartenant au monde des bactéries, et voici les chiffres trouvés par mètre cube, dans le parc de Montsouris, en 1879-1880 et 1880-1881, et leur moyenne :

	1879-1880.	1880-1881.	Moyennes.
Octobre	142	252	197
Novembre	106	209	158
Décembre	49	48	49
Janvier	45	36	41
Février	31	15	23
Mars	74	93	83
Avril	48	56	52
Mai	80	195	137
Juin	92	39	65
Juillet	190	53	122
Août	111	47	79
Septembre	105	129	117

De l'inspection de ces chiffres, nous pouvons tirer quelques conclusions :

1° Le nombre des bactériens que peut nourrir un liquide très altérable est beaucoup plus petit que le nombre des germes que les procédés aéroscopiques permettent de décéler dans l'air. C'est là un fait en parfait accord avec les expériences de M. Pasteur, et que nous aurions pu prévoir avec ce que nous savons déjà, mais qu'il n'en est pas moins intéressant de voir vérifié par l'expérience;

2° Le nombre des bactéries aériennes décroît rapidement à la fin de l'automne, reste bas pendant l'hiver, et s'accroît rapidement en été, en passant par une série d'oscillations, intimement liées aux conditions météorologiques régnantes. Cette conclusion est d'accord avec celle que nous avions pu déduire de l'étude du nombre total des germes, vivants ou morts, présents dans l'air.

La relation entre les conditions météorologiques et la quotité des bactéries de l'air est encore confuse. En la prenant comme relation de fait, M. Miquel a essayé d'en trouver la loi. Il a vu, par exemple, que le nombre des bactéries aériennes, toujours peu élevé pendant les temps pluvieux, augmente pendant la dessiccation du sol, puis décroît quand la sécheresse se prolonge au delà de dix à quinze jours. Mais cette règle, si vague et si empirique qu'elle soit, et

bien qu'elle se vérifie dans certaines circonstances, ne s'applique pas à la comparaison de l'été et de l'automne, envisagés dans leur ensemble. C'est que l'effet qu'on mesure résulte d'une superposition de causes, qui ne se succèdent, ni dans le même ordre, ni avec la même puissance, ni avec la même régularité. Pour n'envisager que deux des principales, la quantité de bactériens vivants dans l'air peut être considérée comme la différence de ce qui en est versé, et de ce qui s'y détruit à chaque instant. La quantité versée est en relation évidente avec l'état d'humidité de la surface du sol, le nombre et la richesse en matière organique des flaques d'eau qui le recouvrent, la température, etc. Ceux des microbes du sol qui passent dans l'air, par dessiccation, par l'action des vents, etc., y périssent plus ou moins rapidement suivant le degré hygrométrique, la température de l'air, l'action plus ou moins directe du soleil, bref, suivant l'action des mille causes qui font que deux jours qui se suivent ne se ressemblent pas. Il ne faut donc pas s'étonner que l'on soit encore si peu avancé sur une question qui a la complexité d'un problème biologique superposé à un problème météorologique.

Distribution des germes vivants suivant les lieux. — En étudiant par comparaison les bactériens récoltés au parc de Montsouris et à la mairie du IV[e] arrondissement, au centre de Paris, dans la rue de Rivoli, MM. Miquel et Besançon ont trouvé les chiffres suivants :

		Rue de Rivoli.	Montsouris.
1880. —	Octobre	920	142
	Novembre	750	106
	Décembre	540	49
1881. —	Janvier	470	45
	Février	330	31
	Mars	750	74
	Avril	970	48
	Mai	1000	80
	Juin	1540	92
	Juillet	1400	190
	Août	960	111
	Septembre	990	105

A l'inspection de ce tableau, qui ne résume, il est vrai, qu'une année d'expériences, on voit encore :

1° Que le nombre des bactériens, au centre de Paris, est en moyenne dix fois plus grand que celui qu'on trouve à Montsouris ; c'est que, comme on pouvait s'y attendre, les causes de production et les causes de dissémination des germes sont bien plus grandes en ville qu'ailleurs. Il est inutile d'insister sur cette considération presque évidente ;

2° Malgré cette disproportion entre les deux séries de nombres, elles suivent à peu près la même marche croissante ou décroissante. En ville, comme près des fortifications, le chiffre des microbes vivants est faible en hiver, il augmente au printemps, reste habituellement élevé en été, et décroît en automne. Ce parallélisme est encore plus évident si on le suit dans le détail, où l'on voit

toutes les oscillations de l'une des courbes se reproduire fidèlement dans l'autre, dans leur allure générale. C'est que les causes de production, en ville comme ailleurs, restent sous les mêmes influences. La chaleur, l'humidité, etc., agissent de la même façon dans les deux cas, et se traduisent de la même façon dans les faits généraux.

Mais le parallélisme disparaît et doit, en effet, disparaître quand on compare des lieux où les causes de production, celles de dissémination, celles de destruction n'agissent pas dans le même sens, si l'on compare, par exemple, l'intérieur d'un égout, celui d'un appartement, celui d'une salle d'hôpital à la rase campagne. Voici une comparaison curieuse entre le nombre des bactériens vivants dans un mètre cube d'air de deux salles de l'hôpital de la Pitié, et celles de la mairie du IVe arrondissement, pendant quelques mois de l'année 1881.

	Salle Michon (hommes).	Salle Lisfranc (femmes).	Mairie du IVe arrondist.
Mars	11 100	10 700	750
Avril	10 000	10 200	970
Mai	10 000	11 400	1 000
Juin	4 500	5 700	1 540
Juillet	5 800	7 000	1 400
Août	5 540	6 600	960
Septembre	10 500	8 400	990
Octobre	12 400	12 700	1 070
Novembre	15 000	15 600	810

Ce tableau, comme les précédents, prête à des remarques diverses:

1° On voit d'abord que le nombre des bactériens vivants est beaucoup plus grand dans les salles d'hôpitaux qu'à l'extérieur. Comme les nombres du tableau doivent, ainsi que nous l'avons vu, être au moins multipliés par 10 pour se rapprocher de la vérité, on voit qu'il y a dans les salles d'hôpitaux au moins 100 000 germes de bactériens par mètre cube, ou bien un germe par 10 centimètres cubes d'air inspiré ou d'air venant au contact des plaies;

2° On voit, de plus, que l'oscillation est de sens inverse à l'extérieur et à l'intérieur des salles, de l'hiver à l'été. Le nombre des malades est pourtant toujours à peu près le même; mais, l'hiver, les fenêtres sont closes; l'été, elles déversent à l'extérieur l'air impur de l'intérieur. L'air de la salle gagne sans doute à cet échange, mais l'air extérieur y perd. En se chargeant de germes dont le plus grand nombre est sûrement formé de germes morbifiques, il devient une source de péril pour le voisinage. Comment, en effet, ne pas rapprocher de cette conclusion, cet autre fait, révélé par la statistique municipale, que chaque hôpital devient, à de certaines époques, pour le quartier qui le renferme, un foyer épidémique de la maladie dont il offre le plus de cas, si cette maladie est épidémique et contagieuse. Comme il serait injuste et inhumain de forcer l'hôpital à maintenir ses fenêtres closes, et de tracer autour de lui un cordon sanitaire, il n'y a d'autre remède à cette situation que de le transporter à la campagne, et de renoncer aux pratiques actuelles, qui reviennent plus ou moins à tirer un feu d'artifice au milieu d'un parc d'artillerie.

En attendant que ce vœu soit réalisé, alors même qu'il le sera, et en tout cas pour les hôpitaux que les besoins de l'enseignement médical obligeront à garder dans les grandes villes, il est un autre système de précautions trop négligé qu'il serait urgent de prendre, ce serait une désinfection continue de l'air et de tous les objets en usage.

Nous pouvons tout de suite, et sans sortir du sujet que nous étudions dans ce chapitre, donner, de l'utilité de cette désinfection, une preuve palpable et qui, lorsqu'elle a été publiée, a été trop peu remarquée. Dans une série d'expériences faites en 1879 à Breslau, à l'instigation et avec les conseils de M. Cohn, le Dr Miflet a étudié l'air en divers points, en le faisant barboter dans des solutions diverses d'extrait de viande, d'extrait de malt, et dans un liquide minéral. Nous savons à peu près, par ce qui précède, la valeur de ce mode opératoire, mais on peut toujours lui demander des renseignements comparatifs.

Or, tandis que l'air du laboratoire de l'Institut physiologique, celui de la salle de dissection de l'Institut pathologique, celui de la salle d'opérations de la clinique chirurgicale, celui du jardin botanique, et celui qu'on puisait dans le sol troublaient, presque à coup sûr, les infusions organiques où on le faisait barboter, celui qu'on a recueilli à trois reprises différentes dans les salles de l'hôpital des typhoïques, où il y avait de cinq à sept malades presque tous dans la période la plus marquée du délire, a laissé intactes toutes les liqueurs. C'est que les chambres étaient toutes fortement désinfectées à l'acide phénique.

Sans doute cet acide phénique n'est pas mortel pour toutes les bactéries et tous les microbes atmosphériques. Il est, comme nous le verrons, sans action sur beaucoup d'entre eux, lorsqu'ils sont adultes, et il n'arrête pas d'une façon absolue le développement de ceux sur lesquels il agit. Mais il retarde beaucoup ou même empêche la première évolution de beaucoup d'entre eux, et comme, en vertu de sa volatilité, il accompagne les germes de l'air partout où ceux-ci pénètrent, il peut servir de protection contre eux.

On aurait cependant aimé à voir M. le Dr Miflet insister plus qu'il ne l'a fait sur cette expérience capitale et la renouveler à plusieurs reprises, au lieu de l'indiquer, comme il le fait, en dix lignes. La chose en valait la peine. Mais, même en rabattant quelque chose des résultats qu'elle nous promet, l'utilité d'employer largement, dans les hôpitaux, les désinfectants liquides ou gazeux, n'en reste pas moins certaine.

Il nous resterait pour terminer à étudier de plus près la nature des germes en suspension dans l'air. Cette recherche est encore plus complexe que celle que nous venons de faire, et ne peut être tentée qu'avec les précautions que nous avons indiquées plus haut.

Les microbes qui se développent d'ordinaire échappent le plus souvent à tout moyen de caractérisation. La forme est un renseignement de valeur très secondaire quand il s'agit de distinguer les espèces d'un même genre. Les dégagements gazeux dont on peut observer la formation se rencontrent souvent identiques chez des êtres très différents. Il faudrait pour chacun d'eux un ensemble de caractères suffisant pour constituer une histoire physiologique.

On ne possède sur ce sujet que des renseignements épars. *A priori*, il peut y avoir dans l'air des germes de toute espèce, dont quelques-uns peuvent, suivant

les circonstances, être plus ou moins répandus. M. Pasteur a trouvé dans l'air des pays séricicoles, au moment où sévissait la maladie des *corpuscules*, le petit microbe, producteur et témoin de cette maladie. Il a aussi prouvé, dans son mémoire sur les générations spontanées, l'existence dans l'air d'un ferment qu'il avait soupçonné et que M. Van Tieghem a démontré depuis être le ferment de l'urée.

Divers observateurs ont rencontré dans l'air des globules de levure au moment des vendanges. M. Miquel a trouvé dans l'air de Montsouris divers organismes capables de rendre l'urine ammoniacale, ce qui n'a rien de surprenant, presque tous les ferments des matières azotées étant dans ce cas. Mais on ne sait, sur ce sujet, rien de général dont l'étude pourrait être convenablement placée ici. Pour les détails particuliers, nous devons renvoyer aux divers chapitres de ce livre.

Il est pourtant toute une catégorie d'infusoires qu'on ne voit jamais apparaître dans les ballons de culture, ce sont les plus gros et les plus parfaits. M. Pasteur n'en a jamais trouvé de plus gros que les monades. Les germes de ces infusoires volumineux sont-ils absents? Il serait étonnant qu'il en fût ainsi. Ils peuvent être plus rares, supporter moins bien les effets de la dessiccation. Ils ne peuvent être totalement absents? En fait, M. Miquel et d'autres observateurs en ont rencontré. Leur non apparition dans les ballons d'ensemencement n'a d'ailleurs rien qui puisse surprendre. Dans les infusions les plus riches, exposées au contact de l'air, où les germes de ces êtres sont présents dès l'origine, ils n'apparaissent que lorsque des générations nombreuses et variées d'êtres plus petits leur ont préparé un terrain favorable. Dans les ballons d'ensemencement, cette préparation préliminaire n'a pas le temps de se faire, parce que l'absence de l'air arrête bientôt tout travail, parce que les premières espèces développées, moins nombreuses qu'au contact de l'air, ne sont pas toujours celles qui peuvent créer aux gros infusoires le terrain le plus favorable, ou pour toute autre raison qu'on pourrait tirer de la connaissance des fonctions physiologiques de ces petits êtres. Bref, l'explication de ce fait n'exige l'introduction d'aucun élément nouveau dans la question, et nous ne nous y arrêterons pas davantage.

BIBLIOGRAPHIE

Ehrenberg. — *Organisation, systematische und geographische Verhaltnisse der infusions thierchen*, Berlin, 1830.

Gaultier de Claubry. — *Bulletin de la Société philomatique*, 1832.

Pouchet. — *Hétérogénie*, 1859.

Pasteur. — Examen de la doctrine de la génération spontanée. *Annales de chimie et de physique*, 1862.

Reveil. — *Annales d'hygiène*, juillet 1862.

Chalvet. — *Revue médicale*, 1862.

Samuelson. — *Comptes rendus*, t. LV.

Salisbury. — *American Journal of medical sciences*, avril 1866.

Bechi. — *Comptes rendus*, t. LII, p. 852.

Balestra. — *Comptes rendus*, t. LXXI, p. 235.

LEMAIRE. — *Comptes rendus*, t. LVII, p. 625, et t. LXV, p. 637.
CH. ROBIN. — *Traité du microscope*, Baillière et fils, 2e édition.
MADDOX. — *Monthly mic. Journal*, t. III et V.
DUCLAUX. — Sur la germination des corpuscules organisés qui existent en suspension dans l'atmosphère. *Comptes rendus*, 1864.
BURDON SANDERSON. — *Appendix to the Thirteenth Report of the medical officer of the Privy Council for* 1871.
PASTEUR et JOUBERT. — *Comptes rendus*, t. LXXXIV, p. 206.
Dr MIFLET. — Bactéries en suspension dans l'air, dans *Beitrage zur biologie der Pflanzen*, III, p. 119.
BERTILLON. — *Bulletins de statistique municipale*, depuis 1880.
DOUGLAS CUNNINGHAM. — *Examen microscopique de l'air*, Calcutta, 1874.
SCHÖNHAUER et MIQUEL. — *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris*, depuis 1875.

CHAPITRE VI

RÉPARTITION DES GERMES SUR LES SOLIDES ET DANS LES EAUX

Remplissage des tubes ou des matras Pasteur. — Nous venons de voir que les germes féconds sont relativement rares dans l'air. Nous savons, d'un autre côté, que leur surface étant très grande, par rapport à leur poids, ils tombent avec une grande lenteur, et que lorsqu'ils passent d'un point à un autre, c'est plutôt par l'effet d'un mouvement de l'air que par des causes résidant en eux-mêmes. On peut tirer de ces deux faits une conclusion importante pour la pratique, c'est qu'il n'y aura pas trop à redouter de laisser quelques instants au contact de l'air un liquide stérilisé, si cet air n'est pas très agité, et surtout s'il n'est en contact avec le liquide que par une ouverture très étroite. Où que se fasse l'opération, et de préférence si elle se fait en plein air ou dans un local peu habité, pourvu qu'on n'agite pas trop l'air autour des vases, il y aura peu de chances pour qu'un germe fécond vienne fertiliser l'infusion.

Nous allons immédiatement profiter de cela pour nous départir un peu des précautions étroites auxquelles nous avons eu à nous astreindre tout d'abord, et rendre nos recherches plus faciles en simplifiant les procédés opératoires auxquels nous avons dû avoir recours jusqu'ici, dans notre ignorance du véritable état des choses, et dans notre légitime désir d'éviter les causes d'erreur, de quelque côté qu'elles viennent.

S'agit-il, par exemple, de remplir un certain nombre de tubes Pasteur, on substituera avec avantage le procédé suivant à celui que nous avons décrit

On introduit un volume suffisant de l'infusion organique limpide dans un ballon, dont on scelle ensuite le col à la lampe d'émailleur. Puis on porte le tout à 115° dans un bain de chlorure de calcium. L'infusion est ainsi sûrement stérilisée.

On dispose alors à portée de la main ce ballon scellé, une lampe à alcool allumée, et les tubes Pasteur flambés qu'il s'agit de remplir. Il est nécessaire, pour les usages auxquels nous allons les employer, de substituer aux tubes de la fig. 18, ceux qui sont représentés fig. 28, et qui portent deux réservoirs au lieu d'un. Sur le col du ballon scellé, on fait un trait de lime. On suit ce trait avec un morceau de charbon enflammé, de façon à obtenir une fente circulaire. Le col se trouve ainsi détaché et séparé sans chocs du ballon qu'il fermait. On prend

alors un à un les tubes, on donne un trait de lime sur l'une des effilures, on la brise doucement, on la flambe, et on l'introduit dans le liquide du ballon, qu'on aspire jusqu'à ce qu'il arrive dans le tube au niveau voulu. On laisse retomber,

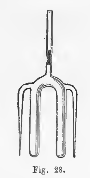


Fig. 28.

sans souffler, le liquide de l'effilure latérale, et on passe à un autre tube. Quand ls sont tous remplis, on ferme à la lampe les effilures restées ouvertes. La fig. 29 représente l'ensemble de l'opération.

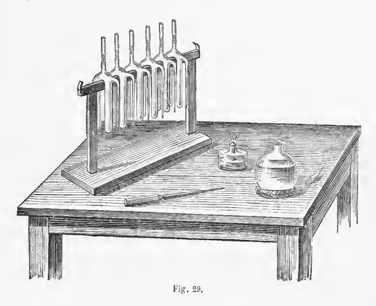


Fig. 29.

Ces tubes sont très utiles dans certaines expériences. Mais il est d'autres cas où l'on doit pouvoir arriver facilement au contact du liquide. On peut alors se servir de l'appareil de la fig. 30, que nous appellerons matras Pasteur, nom qu'il a tout naturellement pris dans le commerce. C'est un petit ballon à fond plat, en verre léger, fermé par un bouchon à l'émeri, à recouvrement, qui lui-même n'est pas plein, mais se termine par un tube de verre obstrué par un tampon de coton. On commence par flamber ce matras comme à l'ordinaire.

Quand on veut en remplir un certain nombre, on les dispose en rang le long d'une table, sur laquelle on met aussi une lampe à alcool et le ballon scellé renfermant l'infusion organique. On a préparé d'avance et flambé une pipette



Fig. 30.

en verre mince (fig. 31) dont le col porte aussi un tampon de coton et dont l'extrémité effilée est fermée à la lampe. On descelle, comme nous l'avons dit tout à l'heure, le col du ballon contenant l'infusion, on casse l'effilure de la

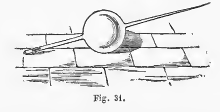


Fig. 31.

pipette, on la passe dans la flamme et on remplit le réservoir par aspiration. Puis, enlevant successivement avec la main gauche les bouchons à l'émeri de chaque matras, on y laisse couler, de la pipette tenue dans la main droite, la quantité voulue de liquide, et on remet le bouchon après l'avoir légèrement flambé.

J'ai tenu à donner tous ces détails, parce que ces manipulations sont devenues usuelles et font partie intégrante de ces procédés de culture des infiniment petits, auxquels nous devons déjà de si beaux résultats. J'ai tenu à les donner ici, parce que, dans leur ensemble, ils confirment le rôle relativement effacé que nous assignions tout à l'heure à l'air comme agent de contamination. Tous les liquides stériles sur lesquels nous venons d'opérer ont été conservés autant que possible en contact avec des surfaces de verre flambées et de l'air stérilisé. Mais nous avons été obligés, pendant le remplissage, de les exposer pendant un temps variable à l'action de l'air ambiant. Or, une expérience, plusieurs milliers de fois répétée, apprend que cela est presque sans inconvénient, et que, lorsque l'opération est bien faite, il n'y a pas plus de deux à trois sur cent des matras ou des tubes Pasteur qui se troublent, lorsque pour les éprouver, ce qu'il faut toujours faire avant de s'en servir, on les laisse quelques jours à l'étuve. Souvenons-nous de ce fait, qui est un des plus importants parmi ceux que nous avons été amenés à mettre en lumière.

Moyens d'étudier les germes sur les corps solides. — Nos conclusions vont être bien différentes si nous examinons au même point de vue les solides et les liquides. Nous avons pour cela tout ce qu'il nous faut. Nous étudierons très commodément les solides à l'aide des matras Pasteur. Il nous suffira d'y laisser tomber, ou d'y introduire, au moyen d'une pince flambée, une parcelle du solide qu'on veut soumettre à l'examen. On refermera de suite en flambant le bouchon, et on mettra à l'étuve. Je puis être très bref sur les résultats qu'on obtient ainsi. Il suffit de dire que le moindre fragment d'un corps solide quelconque renferme des germes féconds, à la seule condition qu'il ait été exposé à l'air. Un morceau presque invisible d'épiderme, un brin unique d'étoffe emprunté à notre linge ou à nos vêtements, un fragment de cheveu, de feuille d'arbre, une goutte d'eau stérilisée qu'on a promenée un instant sur un objet métallique, une parcelle de terre végétale prise même à une grande profondeur sous la surface, tout ce qu'on pourrait imaginer de vivant ou de mort, ayant passé ou vécu au contact de l'air, apporte sûrement la fécondité dans les infusions où on l'ensemence. Il faut, pour trouver des solides stériles, les prendre à l'intérieur des pierres, des roches compactes, des couches terrestres en place et non remuées, ou encore dans les portions du corps des animaux sains qui n'ont aucune communication directe soit avec la surface extérieure, soit avec le tube digestif. Voici les faits qui le prouvent.

Étude des germes dans les roches. — Le monde des végétaux et des animaux supérieurs ayant toujours dû avoir, comme nous l'avons vu plus haut, le monde des infiniment petits comme contre-partie nécessaire, les débris animaux et végétaux des roches doivent y être accompagnés de débris de ferments. Y a-t-il encore parmi ceux-ci des germes vivants? La persistance de leur vitalité, leur existence dans la terre végétale peut permettre de le croire, et on a d'autant plus de chances d'en trouver de pareils qu'on les prendra dans des couches géologiques plus récentes.

M. Béchamp avait annoncé que la craie de Meudon renfermait des espèces vivantes dont il n'assignait, du reste, pas l'origine. Le fait eût été intéressant, quelle que fût son interprétation, s'il avait été exact. MM. Chamberland et Roux ont donc étudié la craie de Meudon, mais en la prenant sur place, et en allant chercher la matière, à quelques centimètres au-dessous d'une cassure récente, au moyen d'une tarière à cuiller flambée. Les quelques grammes de craie qu'on ramène ainsi sont immédiatement introduits dans de l'eau de levure sucrée, très propre au développement de divers ferments et en particulier du ferment lactique. Les matras ainsi ensemencés, placés à l'étuve à 30 et 38°, restent absolument stériles. Mais si on s'est servi de craie provenant d'un laboratoire, ils se montrent toujours féconds. Le ferment lactique y apparaît avec diverses espèces de bactéries et s'y accompagne presque toujours du ferment butyrique. Si, après avoir ajouté la craie du laboratoire, on porte le tout à 115°, on voit reparaître la stérilité des liquides ensemencés avec la craie prise sur place. Concluons donc qu'il n'y a pas de germes géologiques. Ceux que la craie renferme quand elle a été détaillée pour l'usage, proviennent soit du contact de l'air, soit du contact de l'eau avec cette craie pendant sa lévigation et sa préparation.

Germes dans l'économie. — Nous savons que M. Pasteur a montré que les liquides de l'économie étaient purs de germes vivants. Mais comme dans ces liquides il n'y a pas, à proprement parler, d'éléments cellulaires, on pourrait se demander si, en introduisant dans un liquide approprié des fragments de tissus empruntés à diverses parties du corps humain, on n'y verrait pas apparaître des cellules de ferments provenant, soit de germes préexistants, soit d'une régression quelconque des cellules des tissus. Dans des expériences inédites sur la digestion, j'ai eu l'occasion de mettre dans les liquides renfermant des matériaux nutritifs très divers, tels que sucre, amidon, lait, albumine, fibrine, etc., des fragments de tissus empruntés aux diverses glandes de l'appareil digestif. L'opération se fait assez facilement en isolant rapidement, sur un animal récemment sacrifié, l'organe qu'on veut étudier, en se servant de scalpels flambés. Puis on en découpe rapidement des morceaux plus ou moins volumineux qu'on introduit immédiatement dans un matras Pasteur, renfermant le liquide organique stérilisé sur lequel on veut faire agir le tissu de la glande.

En opérant ainsi, il arrive quelquefois que des êtres microscopiques variés apparaissent. Il n'en saurait être autrement avec une manipulation faite nécessairement au large contact de l'air. Mais, deux fois sur trois, il arrive que le fragment de glande reste absolument inaltéré au contact du liquide, sans se digérer lui-même, tout en produisant sur la matière avec laquelle on l'a mis en contact la modification digestive dont il est capable. Il faut donc conclure que l'organe étudié est pur de germes.

Cela n'a lieu pourtant que s'il ne renferme pas de canaux ayant été en libre communication avec l'intérieur de l'intestin, constamment peuplé, comme on sait, des germes les plus divers. J'ai trouvé, par exemple, dans le canal pancréatique d'un chien, et au moyen d'un simple examen microscopique, des microbes adultes jusqu'à plus de deux centimètres du point où le canal vient déboucher dans l'intestin. L'ensemencement de fragments du pancréas, pris au voisinage de cette insertion, s'est montré fécond. Il fallait, pour trouver des fragments privés de germes, les prendre vers l'extrémité de la glande. Le foie et surtout les glandes salivaires m'ont présenté des faits analogues.

On voit, en résumé, qu'il n'y a, à renfermer des microbes, que les portions des corps solides qui ont pu en recevoir les germes de l'extérieur. Sous ce rapport, la nature inorganique ressemble à la nature organique. Les cellules des infiniment petits, que nous avons vu ne pouvoir se former de toutes pièces aux dépens de la matière morte, que nous verrons ne pas pouvoir se transformer les unes dans les autres, ne peuvent pas non plus provenir d'une modification de structure ou de propriétés survenant dans les cellules des animaux supérieurs.

Étude de l'eau. — Les liquides, l'eau surtout, vont nous fournir des résultats du même ordre que les corps solides. Rien n'est plus facile que de les étudier en se servant des tubes Pasteur à deux branches, décrits plus haut, et dont l'une renferme déjà l'infusion organique. Dans l'autre on fait pénétrer, par le procédé et avec les précautions que nous connaissons déjà, quelques gouttes

de l'eau à examiner. On referme l'effilure ouverte, puis, inclinant le tube, on fait passer dans l'infusion une quantité aussi faible que possible de l'eau suspecte, on porte à l'étuve et on attend. Si, au bout de quelques jours, on n'obtient pas de trouble, on fait passer, après agitation ménagée, une nouvelle petite quantité d'eau, et ainsi de suite jusqu'au moment où l'infusion se peuple. On peut par ce moyen, comme on voit, non seulement savoir si une eau renferme des germes, mais encore les nombrer approximativement. Il est bien évident, en effet, que leur distribution dans l'eau agitée étant nécessairement homogène, si les premières *inoculations* d'eau n'ont rien donné dans l'infusion, celle qui l'aura fécondée aura sans doute apporté un germe unique. La précision de la méthode est d'autant plus grande que plus faible est le volume d'eau sur lequel on opère à chaque fois.

La sûreté du procédé dépend de la sûreté avec laquelle aura été faite la prise d'essai de l'eau à examiner. Si cette eau n'est pas facilement accessible, il faudra, pour en recueillir un échantillon, sans y introduire d'autres germes que ceux qu'elle renferme, procéder avec quelque précaution. On pourra, par exemple, recueillir l'eau au moyen d'un tube de verre effilé, dans lequel on fait le vide, et qu'on aura ensuite flambé. L'effilure, plongée dans l'eau après avoir été passée dans la flamme de la lampe à alcool, est brisée avec une pince qu'on vient de chauffer. Quand le tube est plein d'eau, on referme l'effilure à la lampe. Mais cela exige qu'on puisse arriver au voisinage de l'eau. Pour l'intérieur d'un puits, on se servira avec avantage, comme l'a proposé M. Boutroux, d'un tube recourbé en forme d'hameçon à branches inégales, dont la plus courte est effilée, l'autre fermée par un tampon de coton. En flambant le tube, on le débarrasse de tous les germes intérieurs. Au moment de s'en servir, on flambe l'effilure, on l'entoure, au moyen d'un fil de platine, d'une petite éponge qu'on imbibe d'alcool. On y met le feu, on brise la pointe, et on enfonce de suite, au moyen d'une ficelle, le tube dans l'eau à étudier. Quand il est plein, on le relève, et en le fermant à la lampe au-dessous de l'effilure, on évite la cause d'erreur provenant des germes que le tube aurait pu rencontrer dans l'air en remontant. En suspendant la ficelle au bout d'une ligne, on peut aller chercher l'eau au milieu du courant d'une rivière.

Le liquide qu'on recueille ainsi est quelquefois tellement riche en germes que l'ensemencement d'une seule goutte suffit à peupler les infusions. Il faut alors le diluer pour l'étudier de plus près. On introduit un volume déterminé de cette eau dans un volume plus grand d'eau stérilisée par l'application d'une température convenable, et c'est de ce mélange qu'on étudie la richesse en germes.

M. Burdon Sanderson avait étudié, sous ce point de vue, certaines eaux, en prenant malheureusement comme terrain d'ensemencement un liquide mal approprié, qui a introduit beaucoup d'incertitude dans ses résultats. Mais ses expériences positives n'en sont que plus probantes. Il a démontré, par exemple, qu'il existait des germes prêts à se développer dans toutes les eaux, même les eaux distillées depuis peu, lorsqu'elles avaient eu pendant quelque temps le contact de l'air.

MM. Pasteur et Joubert ont confirmé ces résultats et en ont trouvé de nou-

veaux. Les germes de bactéries sont, d'après leurs expériences, si nombreux dans certaines eaux, l'eau de la Seine par exemple, qu'une goutte de cette eau, prise en amont et, à plus forte raison en aval de Paris, est toujours féconde et donne lieu au développement de plusieurs espèces de bactéries, parmi lesquelles il en est dont les germes résistent à plus de 100°, à l'état humide dans les milieux non acides, et à 130° pendant plusieurs minutes dans l'air sec.

M. Miquel a étudié depuis, de plus près, cette question pour diverses eaux servant à l'alimentation de Paris, et voici un tableau qui donne la teneur moyenne en microbes des eaux sur lesquelles il a le plus souvent expérimenté.

Provenance.	Nombre de microbes par cent. cube.
Eau de pluie	35
Eau de la Vanne	62
Eau de la Seine, à Bercy	1 400
Eau de la Seine, à Asnières	3 200
Eau d'égout, prise à Clichy	20 000

L'eau de la Vanne était puisée à Montrouge; celle de la Seine avant son entrée dans Paris, à 1,000 mètres environ du pont du chemin de fer de la Rapée-Bercy. Cette dernière était capable de déterminer l'infection du bouillon neutre à la dose de $\frac{1}{30}$ et $\frac{1}{50}$ de goutte. L'eau de la Vanne ne détermine, d'ordinaire, l'altération de ces mêmes conserves qu'à la dose de 1 goutte ou une demi-goutte. Sa supériorité sur l'eau de Seine est donc bien marquée, mais ce n'est pas encore une eau pure. Elle ne l'est pas autant que l'eau de pluie.

A Asnières, après la traversée de Paris, l'impureté de l'eau de Seine, au point de vue des germes, a presque doublé. Le chiffre des germes versés par les eaux d'égout explique suffisamment cette différence.

Les eaux distillées des laboratoires renferment aussi toujours des germes, bien qu'en nombre moindre que les eaux ordinaires. Il n'y a pas à s'en étonner. Elles ont en général passé en mince filet dans l'air, et ont été reçues dans des vases lavés avec des eaux renfermant des germes. Il faut, pour avoir de l'eau distillée absolument pure d'êtres vivants, la recevoir dans un vase flambé, dont les parois et l'air sont également stériles.

Notons en passant que ces notions apportent, dans l'étude de ce qu'on appelle la pureté des eaux, des documents tout nouveaux. Jusqu'ici une eau était jugée pure quand elle ne renfermait pas trop de substances organiques, et i ne manquait pas de prétendues règles fixant la limite que toute eau potable ne devait pas dépasser sous ce rapport. On la jugeait pure aussi, quand, en outre, elle était limpide à l'œil. Mais nous venons de voir que la limpidité ne signifie rien. L'eau de la Vanne est très limpide, une eau distillée l'est encore plus, e cependant il y a, dans ces eaux, des choses vivantes qui peuvent, à un momen donné, devenir bien plus redoutables que la plus forte proportion de matière organique morte, ainsi que nous le verrons tout à l'heure.

La limpidité n'est, du reste, qu'un caractère grossier, qui est nécessaire, mais ne suffit pas. L'eau la plus limpide, placée sur le trajet de rayons lumi-

neux intenses comme ceux d'un foyer électrique, s'illumine sur tout son parcours, et apparaît subitement comme une eau louche et trouble, à cause des nombreux éléments solides qu'elle renferme, et parmi lesquels nous venons de voir qu'il y a toujours des germes vivants.

Les expériences de M. Tyndall ont montré que l'eau provenant de la fusion de la glace à l'abri du contact de l'air s'illuminait à peine sur le trajet du faisceau électrique. Elle doit donc se montrer plus pauvre en germes que les autres. C'est ce que l'expérience vérifie. MM. Pasteur et Joubert ont trouvé des résultats analogues pour les eaux de source. L'expérience montre qu'elles ne renferment pas trace de germes, mais il faut, pour les trouver telles, les prendre à leur sortie de la terre, lorsque les poussières de l'atmosphère ou de la surface du sol, et les eaux circulant à découvert ne les ont pas encore souillées. Ces faits sont d'accord avec ce que nous savions sur la pureté des roches composant le sous-sol de l'écorce terrestre.

De même les eaux de pluie sont toujours très peu chargées. Le tableau ci-dessus les met en avant de toutes les eaux de rivières. Cela n'est pas surprenant. Elles n'ont pas encore eu le contact du sol. Mais, à 35 germes par centimètre cube en moyenne, cela les fait de 500 à 1000 fois plus chargées de germes, à volume égal, que l'air dans lequel elles ont circulé.

Cette richesse en germes, elles la montrent à toute époque, et dans toutes les saisons, qu'elles soient sous forme de pluie, de grêle ou de neige. Pendant les longues périodes humides, l'eau de pluie est à peu près uniformément peuplée de microbes, ce qui prouve qu'ils viennent de loin. En temps d'orage, les premières ondées se montrent plus riches que la pluie qui suit.

Ces germes entraînés par la pluie à la surface du sol vont pulluler à nouveau s'ils rencontrent de bonnes conditions de température. Une portion s'en ira peupler les eaux superficielles et par elles les rivières, une autre pénétrera dans le sol. Mais bien que les germes soient très petits et passent à travers tous les filtres, ils seront retenus par des affinités capillaires à la surface des corps qu'ils rencontreront, et n'arriveront pas au delà d'une certaine profondeur.

L'intervention de ces phénomènes d'affinité capillaire, pour arrêter les germes au passage, peut se prouver par un fait dont j'ai été souvent témoin. Nous verrons bientôt qu'un filtre en terre de pipe ne laisse passer aucun des germes, si ténus qu'ils soient, que peut renfermer un liquide qu'on force à filtrer au travers de ses pores. Est-ce à dire que ceux-ci soient trop petits? Non, car si on laisse une mucédinée s'établir sur la face supérieure de ce filtre, les filaments du mycélium apparaissent bientôt à la face inférieure, et ils sont dix et même cent fois plus larges que les germes les plus petits. Mais leur travail lent d'allongement leur a permis de circuler dans des canaux dont les parois arrêtent, par un véritable phénomène de teinture, les germes circulant à leur contact.

Toutes ces notions sont autant de déductions légitimes des faits que nous connaissons déjà, mais on peut les préciser par quelques chiffres empruntés aux travaux de M. Miquel, et relatifs au nombre de germes vivants que l'on peut trouver dans un gramme de terre meuble empruntés à divers sols. Tous ces nombres sont affectés de la même cause d'erreur que celle que nous avons signalée à propos de l'étude des germes vivants de l'air, c'est-à-dire qu'ils sont

tous des nombres minimum et, de plus, ne sont pas absolument comparables. Mais il n'y en a pas moins un grand profit à tirer de l'étude de leurs variations, quand celles-ci dépassent une certaine mesure.

Voici d'abord les nombres de bactéries trouvées dans le sol à une profondeur de 20 centimètres, et pouvant donner une idée de la population de microbes vivants à cette profondeur :

Provenance.		Nombre moyen de bactéries par gramme de terre.
—		—
Montsouris		700 000
Gennevilliers.	Terre irriguée à l'eau d'égout	870 000
	Terre non irriguée à l'eau d'égout	900 000

De la faible différence entre ces chiffres on peut déduire, ce à quoi il était naturel de s'attendre, que l'on a beau amener sur un sol de l'eau chargée de semences de microbes, la quantité que le sol peut nourrir et renfermer varie peu. A cause de la merveilleuse puissance de reproduction de ces êtres, l'ensemencement du sol est toujours suffisant. Il peut modifier la nature des habitants, et ce point demeure réservé, mais il n'en change pas sensiblement le nombre.

Jusqu'où s'enfonce cette population de microbes? Voici qui peut en donner une idée dans un cas particulier. On a pris de la terre à diverses profondeurs, dans la cour de l'École militaire, à proximité de la paroi extérieure d'un égout qui, depuis un siècle, reçoit toutes les déjections de la caserne pour les conduire à la Seine. Voici les nombres de germes trouvés par gramme de terre :

A 1 mètre de profondeur, près du piédroit de l'égout. . .	64 000 microbes	
A 2 mètres — au niveau extérieur du radier.	1 000 —	ou au-dessous.

Dans ces conditions, très spéciales, il est vrai, la décroissance est manifeste, et le serait partout ailleurs dans des proportions analogues.

Dans ces mêmes terres de Gennevilliers arrosées à l'eau d'égout, la filtration des germes à travers les couches du sol est si parfaite, qu'en étudiant l'eau qui s'en écoule par le drain d'Asnières, M. Miquel n'y a plus trouvé que 12 germes par gramme, tandis que nous avons vu plus haut qu'il y en avait 62 dans les eaux de la Vanne, 1 400 dans les eaux de la Seine à Bercy, et 3 200 dans les eaux de la Seine à Asnières, après qu'elle a reçu tous les égouts de la capitale. L'eau d'infiltration, si impure à l'origine, ressort donc des jardins et des champs de Gennevilliers avec une pureté, au point de vue des germes, comparable à celle des eaux de pluie. Il ne faudrait pas tirer de ce fait la conclusion que l'eau du drain est l'équivalent exact de l'eau de pluie. En laissant de côté leurs différences de richesse en matières organiques mortes, et n'envisageant que ce qu'elles renferment de vivant, il est clair que les germes des eaux du drain d'Asnières ont plus de chances d'être des germes dangereux que ceux de l'eau de pluie, et cette considération efface bien des ressemblances. Mais on doit y voir la preuve de la puissance du sol végétal comme filtre des éléments solides que l'eau charrie avec elle.

On s'explique donc très bien la migration des microbes, et leur maintien

dans les couches superficielles du sol. C'est là surtout qu'ils résident. L'atmosphère s'en décharge en partie en les tuant par l'action de son oxygène, elle en cède une autre portion aux eaux de pluie, et celles-ci, dans leur ensemble, opèrent l'épuration de l'atmosphère et l'infection du sol. On pourrait croire qu'on ne gagne rien à ce changement de distribution qui ne change rien au nombre total des germes. Pourtant il présente de grands avantages.

Il suffit, en effet, de réfléchir un instant pour voir que la quantité d'air avec laquelle nous nous trouvons journellement en contact est de beaucoup supérieure à celles des liquides et des solides. Les voies de pénétration de l'air à l'intérieur de nos tissus sont, en outre, celles où l'absorption est la plus facile. Enfin, pour revenir au sujet de cette étude, toutes nos opérations, dans les laboratoires, dans les hôpitaux, dans les salles de chirurgie, ne peuvent se faire autrement qu'au libre contact de l'air, c'est-à-dire d'un fluide qui nous échappe par sa mobilité, et que nous devons nous estimer heureux de trouver relativement très pauvre en germes, parce qu'on ne peut que difficilement songer à le stériliser tout à fait. Il en est tout autrement des liquides et des solides. Ils sont en volume limité, et nous en sommes maîtres. Nous pouvons désinfecter nos aliments et nos vêtements, chauffer l'eau que nous buvons, stériliser, par l'application d'une température convenable, celle qui sert au lavage des plaies, aux pansements chirurgicaux, ne pas nous servir d'un fragment de linge qui n'ait été étuvé à 130°, d'un instrument qui n'ait été récemment flambé. Nous pouvons même flamber nos mains, si le genre d'opérations l'exige, et détruire, par conséquent, tout germe vivant dans les solides et les liquides que nous avons à amener au contact de l'organisme malade ou sain.

Microbes contenus dans les eaux. — Ce système de précautions vis-à-vis des eaux ordinaires n'est pas commandé par une simple vue de l'esprit, il l'est par la nature des germes dangereux que les eaux peuvent quelquefois apporter avec elles.

De ces germes, quelques-uns, les plus répandus, sont inoffensifs, c'est-à-dire qu'ils ne peuvent pas se développer dans l'organisme et y apporter la maladie. Il y a sans doute à cela une raison profonde. Les germes des eaux ou des corps solides, sont surtout, à raison du milieu où ils vivent, des germes aérobies. Dans l'organisme, au contraire, ne peut guère se produire qu'une vie anaérobie. L'oxygène n'y est pas présent en nature, et, pour en vivre, le microbe doit pouvoir l'emprunter au moins aux globules du sang, c'est-à-dire à celles des cellules de l'organisme qui le cèdent le plus facilement. Ce n'est guère que dans le poumon qu'il pourrait y avoir place pour une vie purement aérobie, et c'est probablement une vie de cette nature que vivent les êtres qui président à la phthisie pulmonaire. Mais nous savons déjà que l'air arrive purifié aux cellules pulmonaires, et d'ailleurs, ce n'est plus de l'air, c'est maintenant de l'eau qu'il s'agit.

Voici qui démontre que, si cette eau est le plus souvent inoffensive, même lorsqu'elle est mise en contact avec des plaies à nu, elle peut quelquefois y apporter des germes de maladie et de mort.

Vibrion pyogène. — Les eaux de la Vanne contiennent d'une façon

assez régulière les germes d'un petit vibrion court et dodu, d'aspect gélatineux et flexueux malgré son peu de longueur, qui, d'abord très actif dans ses mouvements, devient bientôt immobile, s'étrangle en son milieu, et ressemble alors au *bacterium termo*. Cet être est à la fois aérobie et anaérobie. A ce dernier état, il est ferment et donne un dégagement gazeux formé d'acide carbonique et d'hydrogène. Inoculé à un lapin, il donne en quelques heures un abcès qui gonfle beaucoup, ensuite se remplit de pus, puis se résorbe ou se vide à l'extérieur, sans amener d'ordinaire de désordres graves. Sauf l'abondance du pus, ce sont les mêmes phénomènes que ceux que produit l'inoculation d'un microbe inoffensif. Les cellules de l'organisme résistent à l'envahissement et étouffent le parasite. Mais si on multiplie le nombre des piqûres, et par suite celui des abcès, les conditions peuvent changer : le microbe envahit alors tous les tissus, se propage dans les muscles en y déterminant des abcès multiples, pénètre dans le poumon et dans le foie où il produit des points pneumoniques et des abcès métastatiques. En un mot, on a sous les yeux l'ensemble et le détail des symptômes ordinaires de l'infection purulente.

On peut rendre tout de suite très grave la maladie que produit ce vibrion, qu'à raison de ses propriétés, nous appellerons *vibrion pyogène*, en l'introduisant directement dans la jugulaire. Vingt-quatre heures après, le poumon et le foie sont remplis d'abcès métastatiques à tous les degrés de leur évolution, depuis la tache simplement inflammatoire jusqu'à la petite pustule blanche remplie de pus, entourée d'une auréole rougeâtre. Tous ces abcès renferment le microbe vivant, et peuvent servir à des ensemencements qui le reproduisent identique à lui-même.

Voilà donc, dans une eau commune, le germe d'un être qui pourra sans doute être mis impunément au contact d'un organisme sain, et sera empêché de se développer par la réaction normale des cellules de l'organisme, mais qui, appliqué sur la plaie d'un amputé, d'un malade, pourra envahir l'organisme et y apporter l'infection purulente et la mort. Sa présence dans une eau, par ailleurs excellente, amenée de la pleine campagne, semble prouver que c'est un être banal, capable de se développer dans d'autres milieux que le corps vivant et dans les infusions ordinaires. Nous allons trouver dans le sol un autre microbe non moins dangereux et encore, il semble, plus largement répandu.

Vibrion septique. — Dans ses expériences sur le charbon, M. Pasteur s'est proposé de rechercher dans une terre végétale, prise au voisinage de l'endroit où l'on avait enfoui un animal charbonneux, un germe de cette maladie. Pour cela, il lévige la terre suspecte, de façon à séparer les éléments les plus ténus. Les eaux qui tiennent ceux-ci en suspension sont ensuite abandonnées à un repos absolu, pendant lequel se forme au fond du vase un dépôt pulvérulent renfermant tous les germes vivants. On décante, on recueille le dépôt, après l'avoir rendu un peu acide, dans un tube Pasteur qu'on chauffe quelques minutes à 90°. Cette température tue un grand nombre de germes. On laisse déposer, et on injecte le dépôt, par petites fractions, sous la peau d'un animal approprié.

Lorsqu'on fait cette opération avec une terre quelconque, on voit fréquem-

ment l'animal inoculé mourir avec un ensemble de symptômes qui rappellent tout à fait l'idée d'une putréfaction survenant sur le vivant. Les muscles sont enflammés, le tissu cellulaire est tout emphysémateux. On observe çà et là, de préférence aux aisselles et aux aines, de véritables poches gazeuses, et si l'on examine au microscope une goutte de la sérosité qui remplit l'abdomen, on la trouve remplie de vibrions mobiles anaérobies, dont l'existence explique le dégagement gazeux observé chez l'animal, et les désordres divers qui le conduisent à la mort. C'est le *vibrion septique*, qui, comme le vibrion pyogène, paraît être répandu partout.

Bactéridie charbonneuse. — Quand on a prélevé la terre étudiée au voisinage de la fosse d'un animal charbonneux, la septicémie est fréquemment remplacée par une autre maladie, mortelle aussi, mais qui présente d'autres symptômes. L'état emphysémateux du tissu conjonctif, les dégagements gazeux intérieurs, le ballonnement du corps qui en est la conséquence, tous ces symptômes de la septicémie ont disparu. Ce qui frappe, au contraire, c'est l'état asphyxique du sang et des organes. Le sang est noir et épais, et coule comme une gelée fluide. Il donne aux tissus des nuances assombries. La rate surtout est devenue tellement foncée que la maladie, fréquente chez le mouton, y porte le nom de *sang de rate*. Tous ces désordres sont le résultat du développement dans le sang de la bactéridie charbonneuse, être assez anaérobie pour emprunter aux globules l'oxygène dont il a besoin, et les empêcher de remplir leurs fonctions ordinaires.

Cette bactéridie, sur laquelle nous aurons à revenir, se présente dans le sang sous la forme de bâtonnets courts, raides et immobiles (fig. 32) dont la longueur ne dépasse guère deux fois le diamètre des globules. En culture dans un liquide convenable, elle s'allonge en longs fils enchevêtrés dans l'intérieur desquels on voit bientôt apparaître des spores.

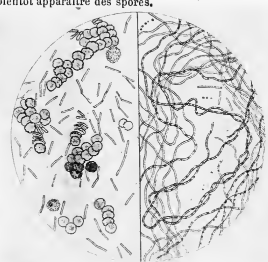


Fig. 32. — Moitié gauche, *Bactéridie dans le sang avec globules sanguins et leucocytes.* Moitié droite, *Bactéridie en cultures artificielles.*

Contrairement à ce qui arrive pour le vibrion pyogène et le vibrion septique, cette bactéridie charbonneuse n'a encore été rencontrée que dans le corps des animaux malades et dans la terre de la fosse où ils ont été enfouis. Nous allons profiter de cela pour résoudre une question importante, à laquelle les autres microbes du sol et des eaux ne nous auraient pas permis de répondre. Quelle est la durée des germes? Combien de temps peuvent-ils vivre sans passer par le corps d'un animal? M. Pasteur a trouvé, en cherchant dans cette direction, des résultats tout à fait inattendus.

La fosse d'animal charbonneux la plus ancienne que M. Pasteur ait eu l'occasion d'étudier, datait de douze ans. On y a trouvé des germes encore vivants. Il est probable que cette limite peut être de beaucoup dépassée. Rien ne dit, il est vrai, que le germe déposé à l'origine soit resté à l'état de germe inerte. Cette question est distincte de celle que nous essayons de résoudre, et nous aurons bientôt à l'étudier. Pendant les douze ans de séjour dans la fosse, il peut s'être succédé une série de générations. Mais l'espèce subsiste, c'est là l'important. Bien plus, et cette circonstance mérite de fixer l'attention, on a recherché avec succès les germes sur la terre recouvrant la surface de fosses déjà anciennes, alors que pourtant, depuis l'enfouissement, cette terre n'avait pas été remuée. On en a trouvé aussi à la surface d'autres fosses, où la terre avait été soumise à toutes les opérations de la culture et des moissons.

Ce dernier fait montre qu'il faut renoncer à trouver, dans l'assimilation végétale, le moyen universel d'épuration des matières organiques qu'on a trop de tendance à y chercher. Les grandes plantes peuvent utiliser les principes immédiats, que fabriquent au-dessous d'elles, dans le terreau et la terre végétale, les infiniment petits qui y vivent et détruisent les matières organiques avec lesquelles ils sont en contact, mais ces êtres eux-mêmes et surtout leurs germes résistent à toute assimilation. Le grand végétal ne détruit pas ce sans quoi il ne saurait vivre.

Mais le fait de l'existence de germes à la surface du sol, resté intact, d'une fosse déjà ancienne, ouvre de bien autres horizons. Comment ces germes y sont-ils venus? Comment la terre, qui est un filtre si puissant, qui protège si aisément contre l'envahissement des germes toutes les eaux de sources, peut-elle se laisser traverser de bas en haut par des germes ténus, mais solides, et que les pluies devraient, il semble, entraîner dans les profondeurs. M. Pasteur a découvert que c'étaient les vers de terre qui les ramenaient à la surface du sol. Sans doute, il doit y avoir d'autres êtres qu'eux, les taupes, les courtilières, certaines espèces de fourmis, toutes les espèces animales qui, vivant dans le sous-sol, se trouvent de temps en temps venir à sa surface. Mais les vers sont évidemment des agents très actifs, car ils vivent de préférence dans les détritus organiques, et les petits cylindres de terre qu'ils déposent à la surface du sol après la pluie ont été absorbés par eux dans les profondeurs. C'est de la terre de fond qu'ils ramènent, avec les germes charbonneux qu'elle recèle à l'occasion, et que la méthode de séparation de M. Pasteur y révèle.

Tous ces faits, rapprochés les uns des autres, permettent de se faire une idée des relations des germes avec le sol et les eaux. Dans l'air, nous l'avons vu, ces germes perdent assez rapidement leur vitalité, lorsque les pluies ne les ramènent

pas vers la terre, mais une fois qu'ils y sont arrivés et s'y sont logés, ils semblent indestructibles, soit qu'ils y restent à l'état de germes, vivant d'une sorte de vie latente, soit, ce qui est plus probable, qu'ils s'y cultivent et s'y succèdent de génération en génération. On les retrouve prêts à agir tant qu'une espèce voisine, mieux appropriée qu'eux-mêmes aux conditions d'existence qu'ils y trouvent, n'est pas venue les annihiler ou les détruire. Dans certains cas, comme nous le verrons à propos de la levure du raisin, il y a toute une germination, toute une floraison de certains germes qui, peu répandus auparavant, envahissent le terrain pour quelques semaines et l'abandonnent ensuite. Les mêmes eaux, coulant dans les mêmes conditions apparentes à la surface des mêmes sols, emporteront avec elles, plus ou moins loin, les germes variables qu'elles y trouvent, pourront en favoriser quelques-uns, en leur offrant, soit en elles-mêmes, soit dans les pays nouveaux qu'elles vont traverser, de meilleures conditions de milieu, en détruiront d'autres en vertu de la concurrence vitale, et de tout cela résultera une variété infinie dans le nombre et la nature des espèces dont elles se montreront peuplées. Mais toujours il y aura des germes, et à peu près toujours, des germes dangereux.

De là, la conclusion que la question des eaux d'alimentation est entrée dans une phase nouvelle. Tant qu'on s'est borné, pour la juger, à demander uniquement les conseils de la chimie, celle-ci a recommandé les eaux de rivières comme préférables aux eaux de source, parce qu'elles sont plus aérées. Elle a indiqué les sels qui étaient nuisibles, fixé la proportion de matière organique qu'il ne fallait pas dépasser, le rapport de l'azote ammoniacal à l'azote organique, etc. Tout ce qu'elle a enseigné sur les propriétés physiques et la composition chimique des eaux potables mérite de rester, mais non la préférence qu'elle accorde aux eaux de rivières sur les eaux de source. Toute eau de rivière est impure au point de vue des germes, quel que soit son degré de limpidité. Si elle a circulé en rase campagne, elle a reçu des eaux superficielles, riches en germes. Si elle a passé au voisinage d'une maison, traversé un village, une ville, des milliards de germes nouveaux sont venus y habiter. Parmi ceux-ci, il il y en a nécessairement qui sont dangereux, la maladie virulente étant de tous les lieux et de toutes les époques, et qui, s'ils rencontrent un terrain favorable, vont se développer de nouveau, apportant avec eux la maladie et la mort.

Sans doute, il est impossible de se mettre absolument à l'abri de tout danger provenant de ce chef. Si l'alimentation des habitations isolées peut se faire aux dépens d'eaux très pures, il n'en est plus de même de celle des villes. Mais on réaliserait un progrès notable en séparant pour celles-ci le service des eaux potables du service des eaux ménagères et industrielles. Pour ces dernières, nous n'entrons pas directement en contact avec elles, et elles peuvent renfermer sans danger sensible des germes, même dangereux. Mais, pour les eaux potables, de même que pour toutes les eaux de pansement dans les hôpitaux et ailleurs, il faudrait une canalisation spéciale, allant capter l'eau à la source même, sans attendre qu'elle ait le contact de l'air, et la conduisant dans des tubes clos, sans infiltrations possibles, dans la ville où elle doit être utilisée. Cette canalisation n'aurait pas besoin de se ramifier dans les maisons. On ne consomme cette eau qu'en petites quantités, et il ne serait pas difficile d'aller la chercher au moment

voulu à la fontaine. Elle n'aurait pas besoin d'être très abondante, ce qui permettrait de s'adresser à des sources très pures, venant des profondeurs du sol, et tout à fait exemptes de mélange avec les eaux de la surface.

BIBLIOGRAPHIE

Béchamp. — *Comptes rendus*, 1866, t. LXIII, et 1881, t. XCII
Chamberland et Roux. — *Comptes rendus*, 1881, t. XCII.
Burdon Sanderson. — *Thirteenth report*, etc., 1872.
Pasteur et Joubert. — *Comptes rendus*, 1878.
P. Miquel. — *Annuaire de l'observatoire de Montsouris*, 1879, 1880, 1881.
Tyndall. — *Les microbes*. Paris, Savy, 1882.
Pasteur. — *Comptes rendus*, 1879, 1880.

CHAPITRE VII

ACTION DE LA CHALEUR SUR LES MICROBES ET LEURS GERMES

Étude des agents physiques. — Électricité. — Parmi les agents physiques jouant un rôle dans la physiologie des êtres que nous étudions, la chaleur est le seul qui ait été bien étudié. On n'a sur l'action de l'électricité que des renseignements confus et contradictoires. Si tant est que cet agent intervienne, on ne sait pas encore dans quelles conditions. MM. Cohn et Benno Mendelsohn ont recherché l'action d'un courant électrique sur la multiplication des bactéries. Avec les courants galvaniques faibles, l'action est nulle. Avec les courants plus forts, tous les effets qu'ils ont observés sont attribuables aux changements chimiques produits dans le liquide par l'électrolyse, et rentrent dans ce que nous savons ou ce que nous apprendrons de l'influence de l'acidité ou de l'alcalinité des liqueurs sur les cellules des ferments. Les courants galvaniques n'ont donc pas d'action physiologique qui leur soit propre. Il en est de même pour les courants d'induction.

Lumière. — Pour la lumière, on est tout aussi mal renseigné. Certaines espèces de mucédinées la recherchent d'une façon très certaine; la plupart d'entre elles et la presque totalité des ferments paraissent être absolument indifférents à son action. La chaleur a, au contraire, sur les phénomènes de germination et de sporulation, une influence très grande et souvent décisive.

Chaleur. — On peut dire que toutes les espèces connues ne commencent à proliférer qu'au-dessus d'une certaine température, bien que pour beaucoup d'entre elles la vie puisse persister à des températures beaucoup plus basses. Mais la multiplication ne se fait qu'à partir d'un certain degré. Elle devient ensuite de plus en plus active, au fur et à mesure que la température s'élève, jusqu'à un certain point, où elle est maximum. Puis, il y a une décroissance marquée, et on observe en sens inverse les mêmes phénomènes que tout à l'heure, c'est-à-dire que la multiplication commence par s'arrêter, puis la vie elle-même à une température plus élevée.

Ces températures critiques sont variables d'une espèce à l'autre, et il semble,

au premier abord, qu'il n'y a rien de général à dire sur elles. Nous indiquerons, en effet, pour chacun des êtres que nous étudierons, les chiffres qui font partie de son histoire physiologique. Mais de l'ensemble des résultats connus jusqu'ici, on peut tirer quelques conclusions générales, dont la place est tout naturellement au début de ce livre, et que nous allons passer en revue, en empruntant de préférence nos exemples aux êtres que nous ne devons pas rencontrer de nouveau dans la série de nos études.

Il y a, en plus, une précaution à prendre. Toutes les notions que la science possède sur ce sujet sont restées très confuses tant qu'on a opéré sur des mélanges d'espèces, très souvent de même apparence, et qu'on était trop exposé à confondre les unes avec les autres. En essayant alors de fixer le chiffre de la température *minima* de germination, de la température de prédilection de l'être, de celle qui l'arrêtait dans son évolution ou bien le tuait, on obtenait des résultats contradictoires qui tenaient quelquefois à la différence des procédés opératoires employés par les divers savants, mais qui venaient le plus souvent de ce qu'on n'opérait pas toujours sur la même espèce. Tous les résultats obtenus dans cette voie sont naturellement frappés de discrédit. Ce serait encombrer ce chapitre que de rappeler ces tentatives, même très brièvement. Là encore, comme plus haut, il n'y a de travail fructueux qu'à la condition d'opérer sur des espèces pures et bien connues, et je ne citerai que les résultats fournis par cette méthode.

Résistance au froid. — Le fait que certaines mucédinées, vivant en plein air, résistent aux hivers les plus rigoureux, semble montrer que leurs spores peuvent s'accommoder d'un fort abaissement de température. Les spores des urédinées, telles que le *puccinia graminis*, l'*uromyces appendiculatus* supportent ainsi régulièrement, dans certaines régions, des froids de — 15° et — 20° sans perdre leur faculté de germination au printemps suivant.

On pourrait, il est vrai, dire que les spores qui poussent dans les lieux froids sont peut-être venues d'ailleurs. Il faut donc citer les expériences directes dans lesquelles Cagniard-Latour a vu de la levure de bière, refroidie à — 90°, ne pas perdre son pouvoir ferment. Il y a pourtant encore une incertitude sur cette expérience. Cagniard-Latour ne dit pas comment il s'est mis à l'abri de la cause d'erreur pouvant provenir de l'ensemencement spontané de la liqueur dans laquelle il a introduit sa levure refroidie. Il faut ajouter, tout de suite après avoir fait cette réserve, que Cagniard-Latour mérite, dans son affirmation, plus de créance qu'un autre physicien moins au courant que lui des propriétés de la levure.

Pour les températures voisines de 0°, elles ne sont probablement mortelles à aucune espèce, et beaucoup d'êtres microscopiques n'ont pas besoin de plus de chaleur pour proliférer.

D'après Hoffmann, l'*ustilago carbo* germe déjà à 0,5 — 1°; le *Botrytis cinerea* à 1°,6 — 2°,1; l'*ustilago destruens* à 5°. Le *penicillium glaucum* pousse très bien dans les caves de Roquefort, dont la température est voisine de 2° à 3°.

La germination et la sporulation deviennent de plus en plus rapides à mesure que la température s'élève. On disait autrefois que la température la plus favo-

rable à la plupart des moisissures était la température moyenne entre celle de l'hiver et de l'été. Mais on a vu depuis qu'en moyenne, les moisissures préfèrent, presque toutes, les températures comprises entre 30° et 40°. Si elles ne poussent pas mieux en été qu'au printemps, c'est qu'elles y ont d'ordinaire moins d'humidité.

Voici pour la mucédinée la mieux connue, l'*aspergillus niger*, les poids de plante obtenus en trois jours sur le même substratum et dans les mêmes conditions extérieures, mais à des températures différentes :

Température.	Poids des récoltes.
19°	0gr,3
22	0 ,6
27	1 ,2
29	2 ,5
32	3 ,5
34	4 ,2
37	3 ,8
39	3 ,0
42 à 43	traces

C'est donc vers 35° que la germination semble, toutes choses égales d'ailleurs, la plus active. Mais on peut approfondir davantage, et prouver la sensibilité de la moisissure vis à vis de la chaleur en déterminant plus exactement la température du maximum de récolte :

Température.	Poids des récoltes
32°	4gr,16
34	4 ,60
36	4 ,1

On voit quelle influence peuvent exercer deux degrés de plus ou de moins dans la température du liquide dans lequel croît la mucédinée.

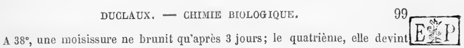
Ces chiffres, si intéressants qu'ils soient, ne disent pas tout. La plante ayant un appareil nutritif et un appareil de reproduction distincts, on peut se demander si la température agit de même sur les deux; si, par exemple, à basse température, elle peut parcourir son cycle d'évolution complet, et ne sera pas réduite à végéter sans donner de spores? Voici ce qu'a observé M. Raulin à ce sujet.

Une culture de l'aspergillus, maintenue à une température au-dessous de 20° pendant 15 jours, n'a pas fructifié; la surface de la moisissure est restée blanche.

La même moisissure, à 24°, est devenue légèrement brune après 12 jours de végétation; après 15 jours, elle a commencé à noircir par suite de la formation des spores qui sont noires.

A 31°, la teinte blanche du mycélium passe au jaune brun, le 3e jour; après 4 jours, elle devient noire.

A 34°, la teinte jaune apparut après 36 heures; le 3e jour, la surface était toute noire.



A 38°, une moisissure ne brunit qu'après 3 jours; le quatrième, elle devint noire.

A 41°, la teinte blanche passe aussi au brun, mais avec beaucoup plus de lenteur.

Si l'on songe que l'aspergillus niger, resté 15 jours réduit à son mycélium dans la première expérience à 20°, n'en est pas moins capable de fructifier à cette température, et même à une température plus basse quand on lui donne le temps pour cela, on voit que le froid ou un trop fort degré de chaleur peuvent retarder l'évolution, influencer peut-être inégalement ses deux phases de végétation et de reproduction, mais ne l'empêchent pas d'être complète, s'il y a, par ailleurs, ce qui est nécessaire pour cela. Nous retrouverons plusieurs fois ce fait d'une vie qui, une fois commencée, tend, par tous les moyens possibles et au travers de toutes les difficultés, à aboutir à son terme naturel, qui est la production d'un être nouveau.

L'exemple que nous venons de citer nous donne, au sujet de l'action de la température, des notions que nous pouvons considérer comme générales, et qui ont le caractère important, à nos yeux, d'avoir été obtenues avec une espèce bien pure et bien connue. Des études analogues ont été faites sur d'autres êtres. M. Eidam a, par exemple, étudié, au même point de vue, une espèce qu'il appelle *bacterium termo*. Mais le liquide qu'il a choisi comme terrain d'ensemencement, à raison de sa réaction acide et de sa constitution chimique, est loin, nous le verrons bientôt, d'être un milieu favorable à l'évolution des bactéries, et aux difficultés variables de développement provenant des températures diverses est venue s'ajouter, dans les expériences de M. Eidam, une difficulté constante provenant de la non convenance du milieu; de sorte qu'on ne sait quelle est la résultante, ni si elle agit toujours dans le même sens. De plus, M. Eidam dote son bacterium termo du pouvoir d'amener la putréfaction dans les milieux où il se développe. Le bacterium termo, dans le travail de Dujardin, qui l'a nommé le premier, semble, au contraire, être un aérobie, incapable de produire des procès putrides. Les résultats de M. Eidam sont donc incertains et s'appliquent à une espèce incertaine. Il est difficile de leur attribuer, par suite, une valeur quelconque.

Nous pourrions faire des critiques analogues sur un certain nombre d'autres travaux. Cela est inutile. On devine par où ils pêchent, et quelle importance il y a à opérer sur des espèces pures.

Sans qu'il ait été fait d'expériences bien précises sur toutes celles qu'on a isolées et qu'on connaît bien, on peut pourtant dire qu'elles se comportent toutes comme l'aspergillus: elles ont une température de prédilection où leur multiplication est la plus rapide, et où leur évolution complète s'accomplit dans le temps le plus court. Cette température est variable de l'une à l'autre, mais n'oscille guère qu'entre 25° et 38°, bien que, pour d'autres raisons, quelques-unes de ces espèces soient cultivées de préférence en deçà ou au delà des limites que nous venons d'indiquer.

Examinons maintenant ce qui se passe lorsque la température de prédilection est dépassée.

Nous savons déjà que la faculté de proliférer est la première atteinte.

L'étude de la bactéridie charbonneuse nous fournit un curieux exemple de ce fait.

Dans le sang des animaux malades du charbon, on la rencontre par myriades sous la forme de bacillus de faible longueur, très ténus et immobiles, au développement desquels, on sait, depuis les recherches de M. Davaine, et les résultats concluants de M. Pasteur, qu'on doit rapporter le développement de la maladie. Mais elle peut se reproduire aussi lorsqu'elle est cultivée dans un milieu artificiel, et l'urine neutre ou alcaline lui convient très bien. Du jour au lendemain on l'y voit se multiplier en filaments enchevêtrés cotonneux très longs, avec des segmentations très rares, formant un contraste complet avec l'état de bâtonnets courts et raides qu'elle présente dans le sang. C'est dans ces filaments que se forment les spores (fig. 32).

La température de 36-37° est la plus favorable à l'évolution rapide de la bactéridie. Les filaments, développés après 24 heures, donnent déjà le troisième et le quatrième jour des spores en grand nombre.

Si, au lieu de la faire vivre à une température voisine de celles qui précèdent, on la cultive et on la maintient à 42-43°, à l'air, dans du bouillon de poule, l'expérience montre que les spores n'apparaissent pas, même au bout d'un temps très long. La vie persiste, la bactéridie subit même quelques changements que nous aurons bientôt à étudier, mais elle ne fournit pas de germes. Son cycle d'évolution n'est pas complet.

A une température un peu plus élevée, la reproduction par scissiparité, qui persiste à 42-43°, est à son tour atteinte, et on arrive enfin pour la bactéridie, comme pour tous les autres microbes, à une température à laquelle la semence périt et où la continuation de la vie est impossible.

Mais, et c'est là un point d'une importance capitale, cette température mortelle est différente, suivant qu'on opère sur les microbes eux-mêmes ou sur leurs germes. De plus, il y a aussi des différences suivant que l'on chauffe à sec ou en présence d'un liquide. Nous nous trouvons là en présence d'un fait général, d'une loi physiologique à laquelle nous aurons trop souvent recours, pour qu'il ne soit pas nécessaire d'en étudier la manifestation dans les diverses classes des infiniment petits.

Mucédinées. — Spallanzani est le premier qui ait étudié l'influence de la température sur les spores des mucédinées. A la suite de ses expériences, il avait admis qu'elles pouvaient supporter l'ébullition quand elles sont plongées dans l'eau, et même résister à la chaleur d'un brasier ardent quand elles sont sèches. D'ailleurs, dans ce dernier cas, il n'assigne pas la température d'une manière précise.

Ces résultats eussent paru tout aussi concluants que ceux que Spallanzani avait obtenus sur certaines autres graines, telles que celles de trèfle, de pois chiches et de lentilles, s'il n'y avait pas eu, dans le cas des mucédinées, des difficultés d'expérimentation qui n'existaient pas ailleurs. Rien de plus simple que d'essayer si les graines des végétaux supérieurs sont encore capables de germer quand elles ont été chauffées à une température déterminée. Il ne pousse du blé que là où on en a semé, mais pour les mucédinées, leurs germes

peuvent être partout présents, et on les voit se développer partout où elles trouvent des conditions favorables. Aucune expérience sur elles n'est donc concluante que si l'on peut affirmer que les spores qu'on voit germer sont bien celles qu'on a chauffées, et non des spores banales empruntées à l'air.

Nous ne parlerons que des travaux pour lesquels cette condition est remplie. Elle peut l'être de diverses façons, soit que, comme l'a fait M. Pasteur, et comme il est facile de le faire avec un des dispositifs signalés plus haut, on fasse l'ensemencement de façon à éliminer totalement l'influence des poussières de l'atmosphère, soit qu'on pratique l'ensemencement et qu'on le voie réussir sur un nombre de spores suffisant pour que l'on ne puisse pas attribuer le résultat aux spores de l'air, qui sont toujours rares et disséminées.

Payen avait vu les spores d'un champignon qui pousse dans la mie du pain, l'*oïdium aurantiacum*, résister à une température de 120°. A 140°, elles se décoloraient et périssaient. M. Pasteur a vu des spores de pénicillium glaucum, chauffées à 108°,4, germer, dans un liquide approprié, au bout de 48 heures, presque aussi rapidement que des spores intactes. En les portant pendant une demi-heure à une température de 119 à 121°, il y avait encore germination, mais plus lente : les spores étaient évidemment malades du traitement subi, mais la vie n'avait pas disparu; toutefois, quelques-unes, restées à la surface du liquide, n'ont pas germé. En les chauffant une demi-heure à 127-132°, elles périssent toutes. Une espèce que M. Pasteur appelle *ascophora elegans*, et qui paraît être identique au mucor mucedo, périt à la même température. Ces mêmes spores, les expériences déjà citées de M. Pasteur nous montrent qu'elles sont incapables de se développer quand elles sont en suspension dans l'eau, mouillées par conséquent, et qu'on les chauffe seulement à la température de l'eau bouillante. D'après Schmitz, le pénicillium glaucum dans l'eau périt à 61°.

M. Hoffmann a vu les spores d'*ustilago carbo* et d'*ustilago destruens* supporter une température de 104 à 120° à l'état sec. Chauffés dans un espace saturé de vapeur, l'ustilago carbo périt entre 58°,5 et 62° ; l'ustilago destruens, après une heure, à 74-78°, après deux heures, à 70-73°.

Gros infusoires. — Les gros infusoires sont en dehors de notre cadre, et nous n'avons à nous occuper ni de leur morphologie ni de leur physiologie. Mais il y a dans leur histoire, au sujet de leur résistance à la chaleur, des faits qui nous intéressent comme présentant des analogies avec ceux que nous offrent les ferments, et pouvant nous servir à les mieux comprendre.

Les faits de résistance vitale chez les gros infusoires datent des premiers temps de leur découverte. En étudiant une poussière desséchée, recueillie dans une gouttière, Leuwenhoeck constata l'existence d'un animal qui, par l'influence de la dessiccation, cesse bientôt de se mouvoir, perd sa forme, et ne semble alors différer en rien d'un cadavre, mais qui peut être conservé ainsi très longtemps sans perdre la propriété de revenir à la vie, pour peu qu'on lui rende une gouttelette d'eau.

Needham annonça ensuite que les anguillules du blé niellé possèdent la même propriété que le *rotifère des toits* étudié par Leuwenhoeck, et Spallanzani la re-

trouva chez un autre animalcule microscopique auquel il donna le nom de *tardigrade*, et qu'il étudia avec sa sagacité ordinaire.

Ces faits sont constants et faciles à observer. Mais leur interprétation est restée longtemps confuse. Faut-il y voir, suivant l'opinion de Spallanzani, un véritable phénomène de reviviscence, la vie dépendant de la proportion d'humidité, et s'arrêtant, sans s'éteindre, quand l'eau manque, pour reparaître quand on en ajoute? Faut-il, au contraire, suivant l'opinion d'Ehrenberg, admettre qu'une dessiccation même très avancée, lorsqu'elle n'est pas complète, n'empêche pas la vie de se perpétuer et de se traduire par des phénomènes de reproduction, de sorte que les prétendus ressuscités ne seraient que les arrière-petits enfants de ceux qu'on a observés au commencement de l'expérience?

M. Doyère a levé ces difficultés en montrant que l'emploi des moyens de dessiccation les plus puissants dont disposent les chimistes, le vide de la machine pneumatique au-dessus d'un bain d'acide sulfurique, le vide barométrique desséché par du chlorure de calcium pendant trente jours, n'empêchent pas les résurrections. Il y a donc vie latente chez l'infusoire desséché. Mais il y a plus, et c'est là surtout ce qui nous intéresse, il y a une résistance considérable à l'action de la chaleur.

Les rotifères et les tardigrades vivants périssent tous dès que l'eau où ils nagent est chauffée à 45°. Mais, desséchés, on peut les exposer à une température de 120°, pendant quelques minutes, sans qu'ils perdent leur faculté de revivre. M. Doyère en a même soumis à une température de plus de 140°, et a vu un certain nombre de ceux qu'il avait ainsi traités revenir à la vie après leur immersion dans l'eau.

Il faut évidemment rapprocher ces faits de cet autre, découvert par M. Chevreul, que l'albumine de l'œuf, privée d'eau par dessiccation à basse température, peut supporter une température supérieure à celle de l'ébullition sans perdre sa solubilité. Il y a évidemment, dans le rotifère desséché, une substance ou plusieurs, qui ne se comportent pas à la chaleur à l'état sec, comme à l'état humide.

Les résultats de M. Doyère ont été contredits par M. Pouchet. Mais la diversité des résultats obtenus par ces deux savants semble tenir à la diversité des modes opératoires. Les infusoires sont d'autant plus résistants qu'ils sont mieux desséchés. De plus, la dessiccation doit être faite à froid. Celle qu'on fait à la chaleur est périlleuse et doit être absolument rejetée; celle qu'on fait au soleil ne l'est pas moins. En dehors de l'élévation de température, quelquefois très notable, qu'elle produit, elle semble, et nous en verrons plus tard d'autres exemples, exercer une action propre tenant aux phénomènes d'oxydation qu'elle active. Bref, elle n'est pas du tout l'équivalent d'une dessiccation faite à froid et à l'obscurité. Or, quand on veut démêler l'influence de la privation d'humidité sur la vitalité permanente des tardigrades, la première condition est de ne pas mêler à ses opérations des influences étrangères. C'est l'oubli de cette condition qui invalide le travail de M. Pouchet, et laisse intacts les résultats de Doyère qui, du reste, ont été confirmés depuis par divers observateurs.

Dans les expériences qui précèdent, l'influence de la dessiccation agit seule.

Dans les faits qui vont suivre, va apparaître, concurremment avec elle, celle de la différentiation des tissus dans l'être adulte et dans la spore. Chez le rotifère humide ou desséché, ce sont les mêmes matériaux, en particulier la même matière albuminoïde. Dans la spore d'un microbe, on n'a aucune raison de supposer des matériaux identiques à ceux de l'adulte. L'albumine de l'œuf de la poule ne ressemble pas à la chair et au sang de l'animal. Il serait utile de pouvoir démêler, dans les faits de résistance que nous allons rencontrer, les diverses influences qui y prennent part. La chose n'est encore faite qu'en gros, mais on peut résumer brièvement les notions acquises en disant que la formation des spores agit dans le même sens que la dessiccation pour augmenter la résistance vitale.

Monades. — MM. Dallinger et Drysdale ont étudié avec la précision dont leurs travaux portent la trace évidente, la résistance à la chaleur des monades dont ils ont décrit le développement, et de leurs germes.

Pour la monade calycine, que nous avons surtout étudiée, les adultes périssent à 65°,5; les sporules peuvent résister, même en suspension dans l'eau, à une température de 121°.

Pour toutes les autres, la température où périssaient les sporules était toujours de beaucoup supérieure à celle qui était fatale aux adultes, et dépassait toujours 100°. Pour la cercomonade elle était de 128°. Pour la monade à ressort, la monade à crochet, qui donnent aussi des spores, celles-ci résistent à 149°. Pour la monade uniflagellée qui, au lieu de donner des spores est, en quelque sorte vivipare, et donne des êtres ressemblant à leurs parents, la résistance de ceux-ci est beaucoup plus faible, et ils périssent au voisinage de 82°.

Les spores de la monade biflagellée peuvent survivre à 121° comme celles de la calycine.

Ces chiffres n'ont sans doute rien d'absolu, parce que MM. Dallinger et Drysdale ont méconnu ou négligé une influence que nous allons voir tout à l'heure exercer une action puissante : celle de la réaction acide, neutre ou alcaline du liquide de chauffage. Mais ils n'en mettent pas moins en évidence les énormes différences que présentent, à l'égard de la résistance à la chaleur, les adultes et les spores de la même espèce.

Levures, mycodermes et micrococcus. — Chez ces espèces de ferments les formes sporifères sont très peu connues et ne s'obtiennent jamais dans les conditions les plus habituelles de leur vie physiologique. Aussi la résistance à la température de ces espèces est-elle assez médiocre. En général, elles périssent à une température inférieure à 100°, ce qui est d'accord d'une manière générale avec les résultats que nous venons de constater.

Bactéries, bacillus et vibrions. — Ici, nous voyons reparaître les germes, et nous allons retrouver entre leur résistance à la chaleur et celle des adultes, les mêmes différences que plus haut.

Ce monde étant celui auquel appartiennent un grand nombre des espèces étudiées dans ce volume, nous pourrions renvoyer aux résultats que nous au-

rons l'occasion d'exposer. Nous pouvons tout de suite les résumer brièvement en disant qu'à la température de l'ébullition, les germes qui ont péri et les adultes qui ont résisté constituent l'exception. Beaucoup de germes peuvent supporter sans dommage une température qui dépasse 120°. Cette résistance remarquable n'a pas été admise sans discussion. Nombreuses sont les expériences qu'il a fallu accumuler pour prouver que des infusions pouvaient rester fécondes après avoir été chauffées à 100, 110 et même 115°. Ici encore, il serait fastidieux et un peu inutile de les passer en revue. Nous verrions qu'elles concluent toutes dans le même sens et que, lorsqu'elles ont donné des résultats discordants, c'était souvent parce qu'à l'insu de l'opérateur, elles ne portaient pas sur les mêmes espèces. Nous n'en citerons que quelques-unes, faites sur une espèce unique et dont les résultats sont par suite comparables. Nous allons y voir apparaître l'influence de la réaction du liquide, à laquelle nous faisions allusion plus haut.

Elles ont été faites par M. Chamberland sur un bacillus, indéterminé du reste, et rencontré dans l'eau ordinaire. Comme cette eau n'en contient que d'une façon irrégulière et intermittente, on prenait la précaution d'ensemencer le liquide à étudier avec des spores provenant d'une culture antérieure, ce qui leur assurait la prédominance sur toutes les autres spores, en plus petit nombre, que le liquide pouvait renfermer déjà.

Prenons alors un des tubes Pasteur à deux branches que nous connaissons déjà, introduisons dans l'une des branches un liquide neutre stérilisé par l'application d'une température convenable, comme nous avons appris à le faire. Mettons dans l'autre de l'eau ordinaire additionnée de spores, et chauffons-le tout à la température voulue. Puis, faisons passer une partie de l'infusion dans l'eau de l'autre branche, et mettons le tout à l'étuve. S'il y a trouble dans la branche qui renfermait l'eau, c'est qu'elle n'aura pas été stérilisée. Le liquide de l'autre branche servira de témoin et devra toujours rester limpide.

En opérant ainsi, on voit que l'eau contient encore des germes vivants après 2 heures d'exposition à 100°, mais qu'après 3 heures elle reste stérile.

Si, au lieu de chauffer les spores dans l'eau, on les chauffe dans une infusion de foin, ou de l'eau de levure, ou un autre liquide organique, rendu neutre, comme l'était l'eau, au papier de tournesol, on constate des résistances de même ordre, même plus grandes. De l'eau de levure neutre, additionnée de spores, s'est encore troublée après 5 heures d'ébullition ; l'eau de foin, neutre aussi, après 5 heures; le bouillon Liebig après 3 heures, le moût de raisin neutralisé après une demi-heure.

Ces résultats semblent en désaccord complet avec ceux que nous avons rencontrés dans l'exposé des expériences de M. Pasteur sur la génération spontanée, où nous avons dit et prouvé qu'une courte ébullition à 100° suffisait à stériliser les liquides organiques sur lesquels nous avons déjà opéré.

M. Pasteur avait pourtant rencontré des faits qui ne rentraient pas dans cette sorte de règle générale. Ainsi, il avait vu qu'il ne suffisait jamais, pour stériliser le lait, de le faire bouillir. Il fallait le chauffer à 105°. Sa nature de lait était-elle pour quelque chose dans ce résultat? Non, car on communiquait à l'eau de levure, à l'eau de foin, cette même propriété de supporter l'ébullition sans se

stériliser, quand il y ajoutait un peu de carbonate de chaux qui la rendait légèrement alcaline. Le lait est aussi alcalin. Au contraire, toutes les infusions qui sont sûrement stérilisées par l'ébullition, celles de foin, de levure, l'urine, sont un peu acides. L'acidité ou l'alcalinité de la liqueur a donc de l'influence sur la vitalité des germes. Cherchons à voir de plus près comment s'exerce cette influence.

Reprenons notre tube de tout à l'heure, remplaçons l'eau ordinaire par de l'eau plus ou moins acidulée par l'acide sulfurique, ajoutons-y des spores et portons le tout pendant 10 minutes dans l'eau bouillante. Puis, faisons passer, dans la branche qui renferme l'infusion organique neutre stérilisée, une partie de l'eau acidulée chargée de spores, de façon que la réaction du mélange reste encore à peu près neutre. Nous trouverons que l'eau ne deviendra stérile, au bout de 10 minutes de ce chauffage, que si elle renferme plus de 1gr,2 d'acide sulfurique par litre. Au-dessous de ce chiffre, les germes restent vivants.

Pourquoi donc ne se développent-ils pas dans les infusions de foin ou de levure, beaucoup moins acides, alors qu'on les a fait bouillir. Pour le savoir, remplaçons l'eau acidulée de l'expérience précédente par cette infusion que nous maintiendrons 10 minutes dans l'eau bouillante, puis, nous introduirons dans l'infusion neutre de l'autre branche quelques gouttes de l'infusion acide à étudier. Toutes les fois qu'on fait eette expérience, on trouve que l'infusion acide reste stérile, alors que l'infusion neutre de l'autre branche, qui n'a reçu que quelques gouttes de la première, se trouble.

Cette jolie expérience, due à M. Chamberland, montre que l'acidité du liquide nuit à la prolifération des germes. Si donc une infusion de foin, de levure, faite avec de l'eau ordinaire, reste stérile, après une eourte ébullition, ce n'est pas en général que les spores y soient mortes, c'est qu'elles ne peuvent se développer dans un liquide acide. Mais si on sature par de la potasse, chauffée au rouge, ce liquide inerte, il se peuple. C'est pour cela que le lait n'est pas stérilisé à 100°.

Dans une intéressante expérience de M. Tyndall, une liqueur qui avait supporté, sans devenir stérile, 2 heures d'ébullition, était sûrement stérilisée par deux courtes ébullitions faites à 24 ou 36 heures de distance l'une de l'autre, le liquide ayant été dans l'intervalle laissé à la chaleur. La première ébullition avait détruit les êtres adultes, respecté les spores et protégé la liqueur contre un envahissement trop prompt. Dans l'intervalle, les spores avaient germé et avaient donné des êtres adultes que la seconde opération avait détruits.

Nous pouvons maintenant comprendre toute l'importance des pratiques que nous avons dû employer pour obtenir des liquides ou des solides complètement stérilisés pour nos expériences. Nous avons dû chauffer les liquides à 115°, parce que c'est à cette température qu'on est le plus sûr de ne laisser aucune spore vivante. Mais en chauffant un liquide dans un vase à cette température, on ne tue que les spores contenues dans le liquide, on ne détruit pas sûrement les spores qui peuvent rester sur les parois du vase en dehors de la partie baignée par le liquide, après y avoir été déposées soit par l'air, soit par les eaux qui ont servi à laver le vase. Ces spores sont dans un air plus ou moins humide, où leur résistance est toujours plus grande que dans l'eau. Il est donc toujours

sage de flamber le vase où l'on devra recueillir et conserver des liquides neutres, de façon à éviter cette cause d'erreur.

BIBLIOGRAPHIE

COHN et BENNO MENDELSOHN. — Influence de l'électricité sur les bactéries. *Beitrage zur Kentniss der Pflanzen Physiologie*, 1876.

RAULIN. — Recherches sur la végétation de l'aspergillus niger. *Ann. des sc. naturelles*, 1868.

EIDAM. — Développement du bacterium termo. *Beiträge*, etc., 1878.

DOYÈRE. — Expériences physiologiques sur la revivification des rotifères et des tardigrades. *Savants étrangers*, 1842.

— Rapport sur ce mémoire, par M. MILNE EDWARDS. *Comptes rendus*, t. XV. p. 320.

POUCHET. — Expériences sur les animaux pseudo-ressuscitants. *Comptes rendus*, t. XLIX, p. 492 et 886.

DOYÈRE. — Sur les animaux ressuscitants. *Comptes rendus*, t. XLIX, p. 751.

DALLINGER et DRYSDALE. — *Monthly Microscop. Journal*, vol. IX, X, XI, XII et XIII.

PASTEUR. — Expériences relatives à la génération spontanée. *Ann. de ch. et de phys.*, t. 64.

CHAMBERLAND. — Thèse. *Ann. de l'École normale supérieure*, 1880.

CHAPITRE VIII

ACTION DE L'AIR SUR LES MICROBES

Nous avons vu que la matière organique ne s'oxyde que très lentement au contact de l'air, lorsqu'elle n'est pas envahie par les infiniment petits. L'air des ballons Pasteur qui restent stériles contient encore, au bout de plusieurs années, une proportion d'oxygène très voisine de la normale. Une très petite quantité seulement de ce gaz est devenue de l'acide carbonique. Si les microbes sont présents, au contraire, l'oxygène disparaît, plus ou moins complètement remplacé par de l'acide carbonique. Le volume de ce gaz, lorsqu'il n'y a pas fermentation à proprement parler, est très voisin de celui de l'oxygène disparu. Lorsqu'il y a eu dégagement gazeux, on en est averti, soit par le dégagement du gaz au moment de l'ouverture du flacon, soit par la diminution dans la proportion centésimale de l'azote. Voici, pour fixer les idées à ce sujet, quelques nombres empruntés aux mémoires de M. Pasteur.

A Ballon d'urine, laissé 2 mois à l'étuve, et resté inaltéré.

B Même ballon dans lequel sont apparues douze petites touffes de mycélium, au bout de 10 jours d'étuve.

	A	B
Oxygène	19,3	0,0
Acide carbonique	3,9	19,5
Azote par différence	76,8	80,5
	100,0	100,0

L'excès d'acide carbonique du ballon A provient en partie de celui qui a été apporté par l'urine.

A Ballon de lait bouilli, resté 40 jours à l'étuve.

B Ballon de lait qu'on trouve au bout de 7 jours d'étuve, caillé et rempli de vibrions, conservant pourtant sa réaction alcaline.

C Lait où l'on avait ensemencé une bourre chargée des poussières de l'air, après 8 jours.

	A	B	C
Oxygène	18,37	0,8	2,3
Acide carbonique	0,16	17,2	28,6
Hydrogène	»	0,2	11,0
Azote par différence	81,47	81,8	58,1
	100,00	100,0	100,0

Il n'est donc pas douteux que les microbes ne soient très avides d'oxygène. Soit qu'ils absorbent pour leurs besoins vitaux celui qui est contenu dans ce liquide où ils vivent, soit que le dégagement gazeux qu'ils y produisent, lorsqu'ils sont ferments, en chasse peu à peu tout l'oxygène, un liquide envahi par eux est bientôt privé de ce gaz. Mais il y a plus, ils peuvent l'emprunter ou l'enlever à des substances qui le retiennent faiblement à l'état combiné, et l'on peut faire, par exemple, avec le carmin d'indigo, une expérience saisissante pour montrer la puissance désoxydante des microbes sur le milieu où ils vivent; on prendra pour cela un liquide organique quelconque; mais le lait est celui qui convient le mieux.

Si dans un lait quelconque, vieux seulement de quelques heures, on ajoute une ou deux gouttes de carmin d'indigo de façon à le colorer en bleu pâle, et si on le met à l'étuve après l'avoir enfermé dans un tube à essai qu'il remplit complètement, on le verra au bout d'un temps variable reprendre sa teinte blanche, pour bleuir de nouveau si on le transvase dans un verre avec assez de lenteur et en assez mince filet pour qu'il puisse s'aérer pendant l'opération. Le carmin d'indigo a été réduit et ramené à être incolore par les ferments du lait qui ont besoin d'oxygène pour vivre, il se réoxyde au contact de l'air pour être décoloré de nouveau plus rapidement que la première fois, à cause de la multiplication des ferments survenue dans l'intervalle, et l'on peut ainsi produire cinq ou six fois cette décoloration et ce bleuissement de la masse, avant qu'aucun phénomène extérieur, tel que la coagulation, avant même que l'examen microscopique, s'il n'est pas fait avec soin, avertisse de l'existence des ferments dans le liquide.

Nous verrons bientôt que certains êtres peuvent pousser plus loin leur puissance d'absorption pour l'oxygène, et emprunter ce gaz à des corps qui le renferment à l'état de combinaison stable. Mais cette partie de la question, de même que l'étude des changements physiologiques qui résultent du passage graduel de la respiration au moyen de l'oxygène libre à la respiration au moyen de l'oxygène combiné, sont du ressort de la théorie de la fermentation qu'il n'est pas encore temps d'exposer. Nous ne voulons envisager ici que les relations générales de l'oxygène libre avec les infiniment petits.

L'expérience montre qu'à côté de ces êtres qui peuvent employer l'oxygène à des combustions organiques, il en est d'autres qui non seulement ne semblent pas avoir besoin de ce gaz pour leur fonctionnement physiologique régulier, mais que l'oxygène tue. Le premier exemple de cette espèce d'êtres a été donné par M. Pasteur, et il les a rencontrés dans l'étude d'une fermentation qui se produit d'elle-même, quand on expose à l'étuve une dissolution de lactate de chaux, additionnée d'un peu de matière organique et de sels minéraux.

Le liquide devient assez rapidement trouble, et si on l'examine le premier

jour, on y voit une foule d'articles très ténus, et très agiles, nageant dans toutes les directions. Ces êtres, développés dans un liquide aéré, vivent en absorbant l'oxygène : on s'en aperçoit au microscope à un caractère particulier. Si l'on observe pendant quelque temps la goutte d'infusion qui les contient, étalée en couche mince entre la lame et la lamelle, on voit bientôt tout mouvement disparaître au centre de la goutte, là où la pénétration de l'air, qui se fait par le pourtour, est évidemment la plus difficile. Servies par leurs instincts, les bactéries qui peuplaient uniformément le liquide abandonnent peu à peu ces plages centrales et se portent aux bords de la goutte, pour y respirer; on les aperçoit fourmillant et grouillant autour des bulles d'air, aux limites du liquide, partout où l'accès de l'air est facile, et le mouvement et la vie peuvent persister là très longtemps. Quelquefois une bulle d'air, très entourée dans les premiers instants, est abandonnée quelques minutes après, aussitôt que l'oxygène qu'elle renfermait a disparu. Bref, tout annonce que ces êtres développés à l'origine de la fermentation de notre dissolution de lactate de chaux ont besoin d'oxygène. Ils en privent peu à peu le liquide; lorsqu'il n'y en a plus, ils tombent au fond du vase, où ils restent inertes, et laissent la place libre à un autre phénomène et à une autre espèce d'êtres, manifestant leur présence par un dégagement gazeux qui peut être quelquefois très vif. Le liquide renferme, à ce moment, une infinité de vibrions plus longs et plus larges que ceux qui les ont précédés, ayant aussi une fonction différente, car ils sont les agents de la transformation du lactate de chaux en butyrate de chaux.

Une chose frappe bientôt quand on promène sous le microscope la goutte de liquide qui les contient, c'est un fait inverse de celui que nous observions tout à l'heure ; tout mouvement cesse au bout de très peu de temps sur les bords de la lamelle couvre-objet, aux points où la goutte de liquide étalée est en contact avec l'air. Au centre de la lamelle, les mouvements se conservent plus longtemps, mais finissent aussi par disparaître. On dirait que l'air libre a une influence mortelle ou au moins léthargique sur ces vibrions, et c'est, en effet, ce qui a lieu. On arrête brusquement une fermentation bien en train en y faisant arriver quelques bulles d'air, et quand on veut voir dans toute leur vivacité les mouvements des vibrions butyriques, il faut employer un dispositif qui les amène sous le microscope sans qu'ils aient eu le contact de l'oxygène. Quand on se contente d'employer le procédé ordinaire, et d'observer une goutte de liquide, qui, pendant la manipulation, a pu s'aérer, les vibrions sont tous languissants, certainement malades. C'est peu à peu qu'ils reprennent de l'agilité vers le centre de la lamelle, au fur et à mesure qu'ils rentrent dans une portion de milieu mieux dépouillée d'oxygène.

Il semble donc qu'il y ait entre ces êtres, et ceux qui les ont précédés dans le même liquide, une différence absolue de propriétés et de fonctions. Les premiers nous fournissent, et nous fourniront désormais, l'exemple typique d'une vie purement aérobie, prenant l'oxygène à l'état libre, et l'employant à des combustions organiques par un mécanisme qui nous rappelle le fonctionnement vital de tous les animaux supérieurs. A une autre extrémité de l'échelle, les vibrions butyriques nous présentent au contraire l'exemple le plus parfait d'une vie anaérobie, redoutant le contact de l'air ordinaire, et se traduisant par

un dégagement gazeux, plus ou moins abondant, produit aux dépens de la matière qui sert d'aliment et qui *fermente*. Dans les gaz produits, il y a toujours de l'acide carbonique, comme dans les produits de la vie des êtres aérobies. Ceci montre que les deux espèces d'êtres n'appartiennent pas à des mondes absolument différents. Nous verrons, en effet, l'intervalle qui les sépare se remplir de toute une série d'êtres intermédiaires passant les uns aux autres par des transitions insensibles. Mais nous pouvons déjà signaler entre eux quelques points de rapprochement.

En premier lieu, il n'est pas démontré que cette vie à l'abri de l'air ou au contact de l'acide carbonique, cette vie anaérobie, comme nous l'appellerons désormais, puisse continuer indéfiniment. Il est, au contraire, très probable que les germes des vibrions butyriques ont besoin de repasser au contact de l'air pour subir une germination nouvelle; mais laissons de côté, pour le moment, cette face de la question. En voici une autre. Nous avons vu que l'air avait une influence léthargique ou même mortelle sur les vibrions anaérobies, nous allons voir qu'il finit par avoir la même action sur les êtres aérobies, à la condition qu'on lui laisse le temps nécessaire. Ce n'est donc pas une différence absolue dans l'influence exercée, c'est une simple différence de degré.

Examinons pour cela les effets produits par le contact prolongé de l'oxygène. Nous allons y trouver des stades successifs qu'il est bon d'envisager séparément.

Changements physiologiques produits par l'oxygène. — Lorsque des êtres aérobies ont envahi un liquide, ils produisent d'une façon continue de l'acide carbonique, mais seulement en proportion de l'oxygène dont ils disposent. Il résulte de ce mécanisme une conséquence facile à saisir, c'est que l'acide carbonique n'est jamais produit en quantité assez abondante pour ne pouvoir se perdre par diffusion. Tant que la vie des aérobies persiste, il arrive toujours de l'oxygène au contact du liquide.

Mais c'est surtout quand la fermentation est terminée que commence l'action que nous avons à envisager. Les microbes, répandus dans le liquide, n'ayant plus de matière alimentaire à transformer, gênés quelquefois par les produits de leur vie qu'ils ont laissé passer en solution dans le liquide qui les entoure, entrent dans une sorte de repos, prennent quelquefois l'état de germes, quelquefois gardent la forme qu'ils avaient dans leur période d'activité. La forme de spores, nous l'avons vu, est une forme protectrice de l'être, et lui communique une sorte d'insensibilité vis-à-vis des agents extérieurs. La forme vivante est, au contraire, celle sous laquelle l'être doit pouvoir traduire les influences du milieu ambiant par cet ensemble de réactions qui constituent la vie. C'est celle que nous envisageons de préférence. On sait qu'un grand nombre d'espèces ne sont connues qu'à cet état.

Cela posé, un liquide organique, habité par une seule espèce de ferments, ne reste pas inerte lorsque la fermentation est achevée. Il reste le siège d'une absorption d'oxygène et d'une production d'acide carbonique. Le phénomène est seulement beaucoup plus lent qu'avant. Mais il résulte du même mécanisme. Ce sont encore les microbes qui sont les agents actifs de cette combustion. Ils ne la portent plus sur la matière alimentaire, sur laquelle ils sont désormais

sans action. Ils la portent sur eux-mêmes, ou plutôt, ce qui est plus probable, ils continuent à la porter sur eux-mêmes, comme au moment de la pleine fermentation. Seulement ils ne peuvent plus réparer leurs pertes, comme ils le faisaient quand ils avaient de la matière alimentaire autour d'eux.

Quel est le résultat de cette oxydation lente? Un de ses effets immédiats et non des moins curieux a été mis en évidence par M. Pasteur dans ses expériences sur les virus animés.

Nous avons vu, dans le chapitre précédent, que la bactéridie charbonneuse, maintenue à 42° — 43°, à l'air, dans du bouillon de poule, ne prend pas la forme de spores. Les filaments persistent seuls, subissent l'action de l'oxygène, et en leur empruntant, à diverses époques, de la semence pour une culture nouvelle, on peut voir ce qu'ils sont devenus. On peut de même essayer, en les inoculant, de savoir s'ils conservent leur action puissante sur l'organisme. Enfin, en leur donnant pour terrain de culture des animaux divers, plus ou moins réfractaires au charbon, plus ou moins sensibles à l'inoculation charbonneuse, on peut, à l'aide de ce réactif vivant, avoir une idée des variations qui surviennent dans la virulence. Voici ce qu'on observe en marchant dans cette voie.

Le premier fait est qu'au bout d'un temps, variable entre un et deux mois, la bactéridie est morte. Elle ne peut plus se développer ni dans du bouillon récent, ni dans l'organisme d'aucun animal, si sensible qu'il soit à l'inoculation bactéridienne. Nous reviendrons tout à l'heure sur cette fin du phénomène. Nous n'en parlons ici que pour la clarté de notre exposé.

La veille de sa mort, la bactéridie se développe dans le bouillon, sans difficulté apparente et avec ses formes ordinaires. Mais dans l'organisme, même celui des êtres les plus sensibles à son action, elle ne manifeste aucune virulence. Elle passe aussi inaperçue que l'un quelconque de ces organismes microscopiques qui remplissent nos aliments, notre canal intestinal, et qui, non seulement ne sont pas nos ennemis, mais deviennent même quelquefois, comme dans la digestion, de véritables auxiliaires.

Ce fait n'est pas isolé, et nous en retrouverons d'autres de tout pareils. Nous ne les attendrons pas pour généraliser l'enseignement qui en résulte, et pour faire observer que l'air nous apparaît comme un facteur important de l'extinction des grandes épidémies. Tant qu'il ne s'agit pas de germes, et il y a heureusement des cas nombreux où les microbes n'en donnent pas, l'air est un agent comburant d'une extrême puissance, pouvant, ou détruire l'être vivant, ou lui enlever toute action sur nous. L'utilité de l'aération des hôpitaux, des chambres de malades, la rareté relative des germes vivants dans l'air, tout se trouve expliqué du même coup, et ainsi se trouve justifiée cette vieille maxime, que l'air est le fondement de l'hygiène.

Mais revenons à notre bactéridie. Qu'arrive-t-il avant le moment où elle a absolument perdu toute virulence? L'expérience montre qu'elle passe par tous les degrés d'atténuation entre la virulence originelle et la virulence nulle qu'elle possède à la fin. Au bout de quelques jours, elle ne tue plus les cobayes adultes, mais tue encore les cobayes venant de naître ou les très jeunes souris. Quelques jours plus tard, elle ne tue plus que les cobayes d'un jour. Fait plus remarquable encore, et qui ne se confond pas, remarquons-le bien, avec le précé-

dent, chacun de ces états de virulence atténuée peut être reproduit par la culture, et conserve sa virulence propre. De sorte qu'en résumé, nous pouvons obtenir plusieurs générations de bactéridies, filles de la même mère, si semblables entre elles au point de vue morphologique qu'aucun caractère bien précis ne permet de les distinguer, et dont les unes peuvent tuer un bœuf, tandis que les autres peuvent être inoculées impunément aux êtres les plus fragiles. Et ces bactéridies se conservent telles quelles, et chacune d'elles peut se résoudre en germes auxquels elle communique, et dans lesquels elle fixe, sans altération possible, sa virulence spéciale.

On a vraiment le droit de se demander, en envisagcant ces résultats au point de vue théorique, si nous ne venons pas d'assister à une création d'espèces. Il y a certainement chez les animaux aquatiques, et surtout chez les infiniment petits, des espèces qui ne sont pas distinguées par des caractères plus essentiels que ceux que nous pourrions établir entre les diverses générations de microbes, en mettant en jeu leurs actions diverses sur les organismes vivants.

Il est certain que si nous ne connaissions d'un côté que la bactéridie inoffensive, de l'autre que la bactéridie qui peut tuer un bœuf, sans pouvoir passer de la première à la seconde, nous devrions les prendre comme deux êtres différents. Que devons-nous faire aujourd'hui? Faut-il voir dans ces deux bactéridies deux espèces différentes, en profitant de ce qu'elles se reproduisent chacune avec son caractère? Faut-il n'y voir qu'un même être diversement modifié, en se rappelant que l'on peut passer de l'un à l'autre?

Remarquons, pour résoudre cette question qui se présente d'une façon incidente, mais qui est trop importante pour nos études ultérieures pour que nous puissions la laisser de côté, que la variation énorme de propriétés que nous trouvons chez notre bactéridie exige pour se manifester autre chose que la bactéridie elle-même. Quelle soit inerte ou virulente, elle se comporte, lorsqu'elle est seule, à très peu près de la même façon, a besoin des mêmes aliments gazeux, minéraux et organiques, ou, du moins, rien ne prouve encore et rien ne fait prévoir que ces deux êtres se comportent différemment dans un même milieu, lorsque ce milieu est inerte. Il faut, pour les distinguer l'un de l'autre, les mettre aux prises avec un milieu vivant dont les éléments ne cèdent pas sans combat. La période d'incubation de la maladie correspond à cette lutte sourde, établie dans l'organisme, entre des cellules ayant les mêmes besoins et se disputant les moyens de les satisfaire. Lorsque la bactéridie l'emporte, elle envahit tout et l'animal meurt, mais elle est quelquefois écrasée, et, après un développement plus ou moins pénible, elle disparaît. Chez les animaux les plus sujets au charbon, il y a des sujets rebelles. Dans la même espèce, deux races différentes peuvent être, l'une réfractaire au charbon, tels sont les moutons d'Algérie; l'autre non, tels sont les moutons de France. Dans les espèces réfractaires au charbon, d'un autre côté, la bactéridie inoculée ne périt pas immédiatement, et se multiplie plus ou moins dans l'organisme. Entre ces espèces réfractaires et les espèces sujettes au charbon, les expériences relatées ci-dessus montrent toutes les transitions possibles. Bref, tous les faits connus dans l'histoire du charbon bactéridien témoignent qu'il y a toujours lutte dans l'organisme, et qu'il suffit de faire très peu varier les propriétés de l'un des êtres entrant en action, pour

assurer sa victoire ou sa défaite. Si l'on ne fait pas deux espèces différentes du mouton de France et du mouton d'Algérie, parce qu'ils se comportent différemment vis-à-vis de la même bactéridie, il ne faut pas faire de la bactéridie virulente et de la bactéridie inoffensive deux espèces différentes, parce qu'elles se comportent différemment vis-à-vis du même mouton.

Concluons donc, en résumé, que l'action prolongée de l'air sur la bactéridie adulte n'en fait pas une espèce nouvelle. Nous avons trouvé, dans les faits que nous connaissons déjà, des raisons probantes en faveur de cette opinion. Ceux que nous allons passer en revue nous fourniront de nouvelles preuves, et nous permettront, en outre, de répondre à une question importante que nous sommes en droit de nous poser. Cette action de l'air sur la bactéridie est-elle définitive? La virulence une fois fixée à un niveau déterminé, et se reproduisant dans les générations successives, est-elle immuable? Nous venons d'obtenir une bactéridie absolument inoffensive, une autre très affaiblie, tuant encore les cobayes d'un jour, mais pas les cobayes plus âgés ni les autres espèces animales; puis, à partir de celle-ci, tous les degrés de virulence. Pourrait-on revenir des plus atténuées aux plus actives? L'expérience répond non pour la bactéridie inoffensive, parce qu'on ne peut plus la cultiver dans un organisme vivant. Elle est désormais fixée, et si jamais elle revenait à la virulence, on peut affirmer que ce ne serait qu'en passant au travers d'une espèce animale nouvelle, aujourd'hui inconnue pour être inoculable, absolument différente de celles que nous savons présentement capables de contracter le charbon.

Mais il en est autrement de celles qui conservent encore une action sur une espèce vivante. Prenons, par exemple, la plus atténuée, celle qui tue seulement le cobaye d'un jour. Inoculons le sang de celui-ci à un second cobaye du même âge, de celui-ci à un troisième, et ainsi de suite, nous verrons se renforcer peu à peu la virulence de la bactéridie. Bientôt nous pourrons tuer des cobayes de trois ou quatre jours, d'une semaine, d'un mois, etc., et enfin des moutons. La bactéridie est revenue à sa virulence d'origine, et la conserve si l'on ne fait rien pour l'atténuer.

Nous avons vu tout à l'heure que l'atténuation des virus par l'influence de l'air doit être un des facteurs de l'extinction des grandes épidémies. « Les faits qui précèdent, à leur tour, dit M. Pasteur, à qui nous laissons la parole, peuvent servir à rendre compte de l'apparition dite spontanée de ces fléaux. Une épidémie qu'un affaiblissement de son virus a éteinte peut renaître par le renforcement de ce virus sous certaines influences. Les récits que j'ai lus d'apparition spontanée de la peste me paraissent en offrir des exemples, témoin la peste de Benghazi, en 1856-1858, dont l'éclosion n'a pu être rattachée à une contagion d'origine. La peste est une maladie virulente propre à certains pays. Dans tous ces pays, son virus atténué doit exister, prêt à y reprendre sa forme active quand des conditions de climat, de famine, de misère s'y montrent de nouveau. Il est d'autres maladies virulentes qui apparaissent *spontanément*, en toutes contrées : tel est le typhus des camps. Sans nul doute, les germes des microbes, auteurs de ces dernières maladies, sont partout répandus. L'homme les porte sur lui ou dans son canal intestinal sans grand dommage, mais prêts

également à devenir dangereux, lorsque, par des conditions d'encombrement et de développements successifs à la surface des plaies, dans des corps affaiblis ou autrement, leur virulence se trouve progressivement renforcée.

« Et voilà que la virulence nous apparaît sous un jour nouveau qui ne laisse pas d'être inquiétant pour l'humanité, à moins que la nature, dans son évolution à travers les siècles passés, n'ait déjà rencontré toutes les occasions de production des maladies virulentes ou contagieuses, ce qui est fort invraisemblable.

« Qu'est-ce qu'un organisme microscopique inoffensif pour l'homme ou pour tel animal déterminé? C'est un être qui ne peut se développer dans notre corps ou dans le corps de cet animal; mais rien ne prouve que si cet être microscopique venait à pénétrer dans une autre des mille et mille espèces de la création, il ne pourrait l'envahir et la rendre malade. Sa virulence, renforcée alors par des passages successifs dans les représentants de cette espèce, pourrait devenir en état d'atteindre tel ou tel animal de grande taille, l'homme ou certains animaux domestiques. Par cette méthode on peut créer des virulences ou des contagions nouvelles. Je suis très porté à croire que c'est ainsi qu'ont apparu, à travers les âges, la variole, la syphilis, la peste, la fièvre jaune, etc., et que c'est également par des phénomènes de ce genre qu'apparaissent, de temps à autre, certaines grandes épidémies. »

Mort des ferments sous l'action de l'oxygène. — Après avoir étudié les variations dans les propriétés physiologiques qui résultent du contact de plus en plus prolongé de l'oxygène, nous revenons maintenant au terme nécessaire de cette série d'influences dépressives, à la mort du microbe. On y arrive toujours, mais au bout d'un temps plus ou moins long. L'intervalle est plus court pour les adultes que pour les spores. Les êtres dont on ne connaît pas la forme sporique, les levures, les micrococcus, les mycodermes périssent donc, toutes choses égales d'ailleurs, plus vite que les autres. Mais tous aboutissent au même terme.

Au bout de combien de temps la mort arrive-t-elle, dans les diverses espèces et suivant les divers modes de conservation? C'est un sujet encore peu étudié, et sur lequel les expériences sont difficiles pour plusieurs raisons. D'abord, à cause de l'incertitude où l'on est toujours, quand on sème des spores vieilles, pour voir si elles n'ont pas péri, de savoir si ce sont elles qui se développent, ou d'autres spores venant de l'atmosphère. On est donc par là toujours exposé à croire encore active une vitalité éteinte, et par suite à trouver des nombres trop grands pour la durée de conservation. D'un autre côté, lorsqu'une spore ensemencée ne germe pas, cela ne tient pas toujours à ce qu'elle est morte, cela peut tenir aussi à ce que le liquide n'est pas très favorable à son premier développement, surtout quand cette spore sort d'un long sommeil qui l'a affaiblie. Cette seconde cause d'erreur conduit, de son côté, à des nombres trop petits.

Je citerai un exemple. Pour essayer si une espèce de levure, que nous rencontrerons bientôt sous le nom de *mycolevure*, était morte, après trois ans de séjour dans un liquide qu'elle avait fait fermenter, et que je savais être très

propre à son développement, je l'ai ensemencée dans un second liquide pareil au premier, sauf qu'il était un peu plus acide. Au bout de huit jours d'étuve, je n'ai observé aucun développement. La quantité de semence avait pourtant été énorme. J'aurais pu conclure que la mycolevure était morte. Il m'a cependant suffi de rajouter un peu d'eau stérilisée dans le matras, ce qui a dilué la liqueur primitive, pour voir le microbe se développer au bout de 24 heures.

Sous le bénéfice de ces réserves, voici quelques résultats obtenus par divers savants et acceptés dans la science, sur la durée de vitalité de quelques espèces microscopiques.

Commençons par celles qui ont été le plus souvent étudiées : les végétations cryptogamiques.

Les spores de la muscardine des vers à soie, produite par le *botrytis bassiana*, sont encore capables de germer après deux ans, mais pas davantage. La limite est à peu près la même pour l'*ustilago maïdis*, le *tilletia caries*. L'*ustilago destruens* peut aller jusqu'à trois ans et demi. L'*ustilago carbo* a pu encore germer après 31 mois. Cette étude sur les ustilaginées est due à Hoffmann. On voit que les diverses espèces d'un même genre paraissent présenter des degrés différents de résistance.

Il en est de même dans les Urédinées. Les spores d'*uredo* et d'*æcidium*, qui peuvent germer aussitôt mûres, ne conservent cette faculté que quelques semaines tout au plus, jusqu'à la fin de l'été où elles sont nées. Les spores du *puccinia graminis*, qui traversent l'hiver, germent très facilement au printemps de l'année suivante, plus lentement et plus rarement pendant l'été, et sont presque toutes mortes en août. D'autres spores de Pucciniées et d'Uromycètes n'ont pas pu aller jusqu'au second été après l'année de leur formation.

De même dans les Péronosporées. La faculté germinative périt après trois semaines dans les spores mal desséchées du *peronospora infestans*, après six à huit chez le *cystopus candidus*.

Tous ces nombres me paraissent un peu faibles et je serais tenté de croire qu'il y a une erreur provenant d'un mauvais ensemencement.

L'exemple de la mycolevure, que j'ai cité plus haut, montre combien ces erreurs sont faciles. Pour les mucédinées en particulier, si on les sème en terrain acide, on les met, de ce fait, dans des conditions défavorables au rajeunissement des spores. Si le milieu est neutre ou alcalin, il est bientôt envahi par des espèces aérobies qui arrêtent encore le développement, en entourant les spores ensemencées d'une atmosphère irrespirable.

Expériences de M. Duclaux. — J'ai donc cru devoir reprendre cette question en employant les procédés sûrs d'ensemencement que nous connaissons, et en variant assez les conditions et les liqueurs de culture pour qu'il ne reste aucune incertitude sur les résultats. J'ai opéré sur des espèces d'âges très différents, mais tous bien déterminées. Quelques-unes provenaient de mes réserves. Pour les plus anciennes, M. Pasteur m'avait permis d'en emprunter les germes aux ballons féconds provenant de ses expériences de 1860 et 1861 sur la génération spontanée. Ces ballons, ensemencés au moyen des poussières de l'air s'étaient, en général, peuplés d'une espèce unique qui, depuis son pre-

mier développement, s'y était conservée à l'état inerte, dans un liquide organique, en présence d'un air presque toujours très pauvre en oxygène. J'ai aussi pu me servir, avec toute sécurité, de bourres de coton ou d'amiante, chargées, depuis plus de vingt ans, des poussières de l'air, par les procédés que nous avons appris à connaître, et restées enfermées depuis dans des tubes clos, à l'abri de toute contamination nouvelle.

Aucun laboratoire ne pouvait bien certainement fournir pour ces expériences des matériaux d'un âge à la fois aussi avancé, aussi authentique et aussi bien déterminé. Je vais indiquer brièvement les résultats auxquels m'a conduit leur étude.

Conservation à sec et à l'air. — Des bourres de coton et d'amiante, chargées en 1860 et 1861 de poussières de l'air, sont restées stériles, quel que soit le liquide où on les ait introduites. Quelques-unes d'entre elles étaient tellement chargées qu'elles étaient *noires*, et devaient renfermer des millions de germes divers. On a donc le droit d'admettre, en présence de cette variété de germes et de liquides, qu'après vingt et un et vingt-deux ans de séjour au sec, et dans un air confiné, renouvelable seulement par voie de diffusion, toutes les espèces de microbes sont éteintes.

D'autres bourres datant de six ans ont, au contraire, fourni plusieurs espèces vivantes.

Conservation dans un liquide organique, et dans un air plus ou moins privé d'oxygène. — Ici, les résultats sont plus variables, et nous devons établir des catégories.

Étudions d'abord les mucédinées. Douze moisissures d'espèces en apparence très diverses, parmi lesquelles il y avait des *penicilliums* et des *mucors*, conservées dans des liquides très différents (lait, eau de levure, eau de levure sucrée) dont la plus âgée datait de 1859 et la plus jeune de 1864, n'ont pu subir aucun rajeunissement. J'ai, en revanche, trouvé vivant un *penicillium* datant de six ans, à la condition de l'ensemencer dans de l'eau de navets sucrée et neutre. C'est une durée de vie très notablement supérieure à celle qu'on pourrait présumer d'après les résultats de H. Hoffmann, mentionnés plus haut.

Les moisissures ont, comme nous le verrons bientôt, la faculté de vivre aux dépens d'aliments très divers. J'ai voulu particulariser davantage et m'adresser à des ferments d'une seule matière organique ; j'ai choisi les levures ou ferments du sucre, et les ferments de la caséine du lait.

Les levures étaient conservées, en général, depuis 1875 ou 1876, dans des liquides qu'elles avaient fait fermenter, en relation avec l'air par un tube capillaire recourbé, qui avait permis à l'atmosphère intérieure de se mettre depuis longtemps en équilibre de composition avec l'air extérieur. Après six ou sept ans, la moitié des ensemencements se montrent féconds. On est donc à peu près sur la limite où la vitalité disparaît. Celles des levures qui avaient le plus résisté étaient, toutes choses égales d'ailleurs, celles qui avaient été en contact avec le liquide le moins alcoolique. Nous verrons, dans le courant de ce livre, que conservées à l'air et desséchées, les levures périssent beaucoup plus vite et ne durent guère plus d'un an.

Pour les ferments de la caséine, j'en ai trouvé un, vivant après vingt et un

ans de séjour dans un lait qu'il avait transformé, et dont il avait amené la couleur à être à peu près celle du bouillon. Tous les autres que j'ai pu étudier, au nombre de six, étaient morts. Il faut ajouter à la liste de ceux qui n'ont pas résisté, un être que j'ai réussi à caractériser comme ferment lactique, et qui était mort après vingt ans.

En revanche, tous les ferments de la caséine que j'ai réussi à isoler, et que je conserve dans des ampoules closes, se revivifient très facilement dans le lait au bout de quatre ans.

A côté de ces ferments des matières albuminoïdes, il faut en placer un autre, que j'ai rencontré dans de l'eau de poivre, enfermée dans un ballon Pasteur depuis vingt-deux ans, et qui, ensemencé dans de l'eau de navets sucrée, la peuple du jour au lendemain. Voilà évidemment, pour cette espèce et celle que nous avons signalée plus haut, des faits de résistance extraordinaire à l'action du temps. Il est remarquable qu'ils se soient produits pour des ferments des matières albuminoïdes ayant rendu alcalin ou au moins neutre le liquide où ils s'étaient développés. La levure qui vit dans un liquide acide meurt bien plus tôt, les mucédinées aussi. Mais il n'en est pas moins vrai qu'après vingt-deux ans, on peut retrouver des espèces vivantes dans le monde des infiniment petits.

Nous avons dit plus haut, au chapitre VI, que l'on pouvait encore trouver, après douze ans, des bactéridies vivantes sur la fosse d'un animal charbonneux. Mais ces bactéridies étaient dans le sol, au contact de l'air, et avaient la liberté de se perpétuer dans une série de générations successives. Les germes que nous venons d'étudier étaient, au contraire, restés à l'état inerte dans un liquide approprié, et dans un air plus ou moins complètement dépouillé d'oxygène. Dans le ballon d'eau de poivre dont nous avons parlé, ils formaient, au fond, un dépôt cohérent visible à l'œil nu. C'étaient donc les germes de l'origine vivant encore depuis près d'un quart de siècle, et se développant cependant dans un liquide approprié avec autant de facilité apparente que s'ils dataient de la veille.

Mode de conservation des semences de microbes. — On voit, en résumé, que le mode de conservation qui assure à la vie la durée la plus longue est la conservation dans un liquide organique, en vases clos, et en présence d'une atmosphère pauvre en oxygène. La pratique de ces études ajoute à cette notion quelque chose de plus, c'est qu'il faut tenir les conserves au froid.

La connaissance de ces faits peut devenir fort utile dans l'étude des infiniment petits. Les espèces y sont tellement nombreuses, il est quelquefois si difficile, quand on en a rencontré ou isolé une, de l'identifier avec une espèce déjà connue ou de la caractériser comme espèce nouvelle, qu'on doit saluer comme un bienfait tout moyen de rendre les recherches moins laborieuses. Or, il n'y en a pas de plus sûr que de comparer, dans les cas douteux, les deux espèces en litige, en les cultivant parallèlement dans des liquides identiques, et en comparant les diverses phases de leur développement. Mais pour cela, il faut avoir toute une collection d'espèces pures, prêtes à se ranimer au moment voulu.

La conservation dans des matras Pasteur est périlleuse parce que le liquide

n'y est jamais qu'en couche mince, et que l'action de l'oxygène y est trop facile. Il vaut beaucoup mieux se servir de toutes petites ampoules en verre mince, munies à leurs deux extrémités de deux longs tubes effilés qu'on ferme en les soufflant. Comme elles ont été chauffées au rouge, elles n'ont pas besoin d'être stérilisées. On les remplit par aspiration du liquide, chargé de ferments, qu'on veut conserver, en prenant les précautions ordinaires, et on les ferme aussitôt à leurs deux extrémités. Une vingtaine de ces ampoules pleines, renfermées dans un tube de verre, peuvent prendre place dans un casier, et servir à former, sous un faible volume, une bibliothèque où l'on pourra puiser au fur et à mesure des besoins.

Je m'en suis fait une il y a cinq ans, renfermant surtout les ferments de la caséine. Aucune des espèces qui la composent n'a encore péri depuis ce temps. Il n'en serait pas de même pour toutes. Ainsi, parmi celles qui ne donnent pas de spores, le ferment de l'urée, le ferment lactique, certaines levures, j'ai déjà observé que la mort survenait au bout d'un temps plus court. Mais il ne serait pas difficile de renouveler tous ces tubes, chaque année, au moyen d'un ensemencement et d'une récolte nouvelle. Avec deux ou trois jours de travail, on remettra sa bibliothèque en état de fournir, au moment voulu, des documents précieux de comparaison, qu'aucune description, si minutieuse qu'elle soit, qu'aucun dessin, si soigné qu'on le fasse, ne saurait remplacer.

Si, malgré le travail énorme qu'on a dépensé, la science des infiniment petits n'est pas plus avancée, c'est que beaucoup de savants n'ont pas suffisamment caractérisé l'espèce sur laquelle ils ont opéré, et se sont contentés pour cela de considérations morphologiques tout à fait insuffisantes. Il en résulte que, dans un exposé méthodique de l'état de la question, on ne sait où placer, ni à quoi rapporter leurs résultats. La science est obligée de se faire sans eux, et il n'y a qu'un pas, de là, à les oublier.

Peut-être pourrait-on essayer du vide comme moyen de conservation, comme moyen de soustraire complètement à l'action de l'oxygène les microbes qui ne donnent pas de germes. Beaucoup d'entre eux semblent le supporter assez facilement, et on est fondé à en attendre de bons effets quand on songe aux curieux résultats que voici.

Expériences de M. P. Bert. — Dans ses beaux travaux sur l'oxygène comprimé employé comme moyen d'investigation physiologique, M. P. Bert a rencontré des résultats qu'on peut résumer en disant que ce que fait le contact prolongé de l'air, l'oxygène comprimé peut le faire en un temps plus court, assez court quelquefois pour faire songer à un effet toxique. Il suffit qu'une infusion peuplée de vibrioniens séjourne quelques instants au contact de l'oxygène pur et comprimé pour que tous ces microbes périssent. Aussi la putréfaction, la fermentation, tous les procès qui exigent le concours des infiniment petits ne peuvent-ils s'accomplir en présence de l'oxygène pur comprimé à 8 et 10 atmosphères.

Les germes résistent plus longtemps, dans l'oxygène comme dans l'air, mais finissent aussi par périr. Du sang de cochon d'Inde mort charbonneux, qui, malgré un séjour de deux semaines dans l'oxygène comprimé à 15 atmosphères,

avait conservé ces propriétés virulentes, les avait perdues plusieurs mois plus tard, après être resté constamment sous pression.

On voit, en résumé, que l'oxygène, malgré les rôles variés qu'il semble jouer, se comporte toujours de la même manière. Il en faut un peu, mais très peu, aux anaérobies pour commencer leur existence. Lorsqu'on amène l'oxygène au degré de dilution où il existe dans l'air, il tue les anaérobies adultes. Il tue leurs germes avec le temps, ou si le temps manque, sous l'influence de la pression. Les aérobies purs vivent très bien dans l'air, lorsqu'ils sont à l'état adulte, mais finissent par souffrir de son contact prolongé. Entre les aérobies purs et les anaérobies purs existent, nous le savons déjà, des transitions insensibles, faites d'êtres qui ont des points de départ différents, dans des atmosphères de plus en plus pauvres en oxygène, et périssent dans des atmosphères de plus en plus chargées de ce gaz. Il n'y a donc que des différences de degré, mais pas de différences essentielles, entre les membres de l'innombrable famille des ferments.

BIBLIOGRAPHIE

Pasteur, — Examen de la doctrine des générations spontanées. *Ann. de ch. et de phys.*, t. 64.
— Infusoires vivant sans gaz oxygène libre. *Comptes rendus*, t. LII, 1861.
— *La bière*. Paris, Gauthier-Villars, 1876.
— Atténuation du virus charbonneux. *Comptes rendus*, t. XCII, 1881.
P. Bert. — Oxygène comprimé. *Comptes rendus*, t. LXXX, p. 1579, et t. LXXXIV, p. 1130.

CHAPITRE IX

CONDITIONS D'EXISTENCE DES ÊTRES MICROSCOPIQUES

L'étude complète de la nutrition des êtres microscopiques exige la solution de plusieurs questions successives. Il faut d'abord rechercher quelles sont les conditions physiques du développement. C'est ce que nous avons essayé de faire dans les chapitres précédents, où nous avons résumé ce qu'on peut dire de général sur ce côté de la question. Nous avons à examiner maintenant quels sont les éléments chimiques nécessaires ou favorables à la vie de ces êtres, quelles sont les transformations que la vie y amène, quelles sont les relations entre ces transformations chimiques et le phénomène vital correspondant. Nous avons, en d'autres termes, à nous poser et à résoudre le problème de la nutrition chez les infiniment petits. Nous allons voir que si ce problème présente une simplicité apparente, il est, au fond, presque aussi compliqué qu'à propos des animaux supérieurs.

Toutes ces cellules infiniment petites, malgré le caractère élémentaire de leur forme et de leur organisation, ont, en effet, une structure très compliquée. Non seulement elles renferment toutes du carbone, de l'oxygène, de l'hydrogène, de l'azote et des éléments minéraux divers, parmi lesquels apparaissent toujours des phosphates; mais encore, quand on procède, non plus à leur analyse élémentaire, mais à leur analyse immédiate, on y retrouve toutes les substances qui entrent dans la constitution des êtres les plus élevés en organisation.

Leur enveloppe extérieure est toujours formée de l'une des variétés de la substance qui porte dans le règne végétal le nom de cellulose, et qui est caractérisée par son insolubilité dans l'eau, les acides ou les alcalis étendus, et par sa plus ou moins complète saccharification sous l'influence de l'acide sulfurique concentré. Cette cellulose, qui peut quelquefois, dans les ferments, passer à l'amidon, à la dextrine ou même au sucre, est le principal représentant, mais non le seul, chez les espèces inférieures, du groupe des substances hydrocarbonées.

Dans ce sac extérieur de cellulose existe un protoplasma à composition variable, mais où l'on trouve toujours des substances hydrocarbonées solubles dans l'eau, des substances grasses, et surtout des matières azotées. Ces dernières ne

sont ni mieux connues, ni plus faciles à isoler les unes des autres dans le monde des infiniment petits que dans celui des animaux supérieurs. Mais, autant qu'on peut le voir, elles sont aussi variées dans l'un que dans l'autre, et semblent être les mêmes dans les deux.

Si l'on envisage maintenant, non les résultats bruts de l'analyse, mais ce que l'on sait sur la façon dont se construisent ces tissus que l'expérience nous montre tout pareils sinon identiques, c'est-à-dire si l'on compare les notions que nous possédons sur la nutrition des végétaux et des animaux, et celle des ferments, il semble au premier abord que l'on rencontre des différences profondes. L'alimentation de chaque animal est chose déterminée, au moins dans ses traits principaux. Il peut emprunter ce qui lui est nécessaire tantôt à une seule, tantôt à plusieurs sources, mais il doit s'adresser toujours aux mêmes matériaux nutritifs, sous peine d'être menacé dans sa santé ou même dans sa vie. Les infiniment petits, au contraire, paraissent pouvoir se développer indifféremment dans tous les milieux, et comme quelques-uns de ceux dans lesquels on les voit apparaître sont certainement très pauvres, ces êtres semblent avoir des besoins alimentaires, non seulement très variables comme qualité, mais encore très restreints comme quantité.

Les quelques détails généraux dans lesquels nous allons entrer vont nous prouver que cette idée est tout à fait inexacte, et que ces êtres que nous avons à classer ne sont inférieurs aux autres que par leurs dimensions. Pour ce qui regarde les conditions de nutrition, il n'y a aucune barrière à établir entre eux et les êtres les plus élevés en organisation.

Envisagés individuellement, les ferments sont même, en général, plus exclusifs qu'aucun animal connu. La plupart d'entre eux exigent un aliment hydrocarboné déterminé, et rares sont ceux qui peuvent emprunter leur carbone à des sources diverses. Tous sont, en outre, très difficiles sur le choix de leur aliment azoté, tous au moins préfèrent telle matière albuminoïde à telle autre, et, quand ils sont des ferments de cette matière albuminoïde, c'est-à-dire quand ils doivent lui emprunter non seulement leur azote, mais encore leur carbone, ils manifestent les mêmes goûts exclusifs que nous constations tout à l'heure à propos de l'aliment hydrocarboné. Enfin, comme il n'y a pas de cellule vivante sans un squelette minéral, les ferments demandent, dans leur liquide nutritif, un mélange de sels très nombreux, particulier à chacun, différent de l'un à l'autre.

Mais il y a plus. Si nous envisageons la question, non plus du côté des ferments, mais du côté des matériaux alimentaires eux-mêmes, nous trouvons ceci : que ceux qui peuvent alimenter directement les animaux ou les végétaux supérieurs peuvent aussi alimenter diverses espèces d'infiniment petits; que ceux que les êtres supérieurs ne peuvent s'assimiler sans leur avoir fait subir, par la digestion ou autrement, une transformation préalable, subissent, avant de servir à la nutrition des infiniment petits, une digestion de même nature, accomplie par le même mécanisme; enfin, que les produits de cette transformation sont les mêmes partout. De sorte qu'il n'y a rien, ni dans le point de départ, ni dans le mode fonctionnel, ni dans les produits de la digestion chez les êtres supérieurs, qui ne se retrouve identique dans le monde des infiniment petits.

Il n'y a rien à dire de général au sujet de la nature des aliments et de celle de leurs produits de digestion, et nous sommes obligés, pour tout ce qui est relatif à ce sujet, de renvoyer aux histoires particulières des divers ferments. Mais le mécanisme de la digestion, l'ensemble des moyens employés par les diverses cellules vivantes pour transformer et se rendre assimilables des matériaux qui, sans cela, ne seraient pas alimentaires, sont jusqu'à un certain point indépendants de la nature des aliments, et, en traitant immédiatement cette question, nous y trouverons une introduction excellente aux questions particulières que nous aurons à traiter ensuite.

Nutrition des êtres supérieurs. — Pour le faire avec utilité, nous devons revenir brièvement sur le caractère général de la nutrition des êtres supérieurs, animaux ou végétaux.

Dans les végétaux d'abord, il y a, comme on sait, deux êtres en quelque sorte superposés. L'un, où la cellule remplie de chlorophylle joue le rôle principal, est un créateur de matière organique. Absorbant et consommant constamment la chaleur solaire, il l'emploie à décomposer l'acide carbonique de l'air, et à faire, à l'aide du carbone qu'il en retire et des autres matériaux que l'air, la terre ou les eaux mettent à sa disposition, les matériaux constitutifs de ses tissus. A côté de lui, il y a, dans le même végétal, un autre être qui consomme cette matière alimentaire et la transforme en eau et en acide carbonique Cette consommation est d'ordinaire lente et elle s'efface presque toujours derrière l'influence prédominante de l'assimilation végétale, mais il y a deux périodes de la vie végétative où elle s'exagère, c'est le moment de la germination et celui de la floraison.

Quand est arrivé, pour un végétal, le moment de fleurir, il semble que la fabrication journalière de matière organique dont il est le siège devienne insuffisante. Du moins on le voit alors, généralement, consommer avec rapidité la réserve de matériaux nutritifs qu'il avait accumulés dans ses organes, pendant la première partie de son existence. La betterave, par exemple, au moment de sa floraison, fait disparaître activement le sucre qu'elle avait déposé dans les tissus de sa racine. Une portion de ce sucre est brûlée et transformée intégralement en eau et en acide carbonique, pendant qu'une autre portion sert à fournir les matériaux nécessaires à l'édification des tissus de la hampe florale, de la fleur et enfin de la graine. Dans ce phénomène, la consommation journalière dépasse la production, et, à partir d'un certain moment, la plante, envisagée en masse, perd de son poids, et se dépense au lieu de s'accroître, comme elle le faisait pendant la première partie de sa vie.

La graine, à son tour, lorsqu'elle est remise en terre, y a apporté avec elle, sous forme d'albumen, de cotylédons, une certaine quantité de matière nutritive aux dépens de laquelle elle va vivre, tant qu'elle n'aura pas développé ses organes foliacés et qu'elle n'aura pu commencer avec eux son rôle de producteur de matière organique. Dans une graine qui germe, il y a aussi perte de poids, destruction complète d'une partie de matière organique, pendant qu'une autre partie s'élève à un degré d'organisation supérieur, en formant les tissus du jeune végétal.

Dans la germination et dans la floraison, la dépense dépasse donc le gain, si pendant le reste de la vie de la plante, c'est le gain qui dépasse la perte. En réalité, les deux phénomènes s'accompagnent toujours, mais avec des activités différentes, et constamment il semble qu'il ne puisse pas y avoir production d'une cellule vivante sans qu'il y ait en même temps destruction concomitante d'une certaine quantité d'aliments antérieurement préparés. En d'autres termes, le végétal, malgré ses dissemblances profondes avec l'animal, lui ressemble cependant en ceci que, comme lui, il est obligé de consommer des aliments pour se créer de nouveaux tissus ou entretenir la vie de ceux qui existent déjà. Il ressemble aussi en cela aux cellules de ferments, qui, privées de chlorophylle, ont besoin qu'on les nourrisse de l'extérieur. Mais il diffère du ferment et de l'animal en ce qu'il crée lui-même l'aliment, dont il consomme une partie, et dont l'autre sert à l'alimentation de l'animal ou du ferment.

Ceci nous montre que les aliments doivent être partout les mêmes. Mais nous pouvons faire un pas de plus. La betterave, que nous prenions tout à l'heure pour exemple, dépose, dans les tissus de sa racine, du sucre cristallisable; la pomme de terre remplit son tubercule de fécule, l'orge, son grain d'amidon. L'expérience montre que ce sucre cristallisable et cet amidon sont, sous leur forme actuelle, inassimilables pour la plante, et qu'avant de servir à l'usage auquel ils ont été destinés, avant de pouvoir servir à alimenter les cellules de cette plante, à en construire de nouvelles, ils doivent subir une transformation préalable à l'aide d'une substance que le végétal ne sécrète pas toujours d'une façon continue, et qui, le plus souvent, n'y apparaît qu'au moment où elle va pouvoir être utilisée. La betterave au moment de la floraison, l'orge au moment de la germination, font naître dans leurs tissus une diastase qui transforme le sucre cristallisable en sucre interverti, l'amidon en dextrine et en maltose, et à l'aide de laquelle ces matériaux, devenus non seulement solubles, mais assimilables, peuvent entrer dans le cycle d'évolution des cellules. On peut même remarquer, à ce sujet, que si la betterave produit ainsi du sucre cristallisable, et l'orge, de l'amidon, c'est précisément parce que ces substances sont à ce moment inassimilables, et sont protégées contre la destruction par l'absence de cette diastase sans laquelle elles ne sont pas nutritives.

Ces phénomènes sont-ils particuliers au monde végétal? J'ai prouvé que non, et que l'albumine qui entoure l'œuf, la caséine que les femelles des mammifères sécrètent dans leur lait, sont comme le sucre et l'amidon, inassimilables sous leur forme actuelle, et ont aussi besoin, avant de servir à la nutrition des espèces vivantes qui les ont sécrétées, d'une transformation produite aussi sous l'action d'une diastase, et qui s'opère d'ordinaire dans leur canal digestif.

Cela posé, voici ce qu'il y a de curieux : c'est que les ferments, quand ils peuvent se nourrir aux dépens de ces mêmes aliments, sucre candi, amidon, caséine, albumine, non assimilables pour les cellules des animaux supérieurs, ne le sont que moyennant une transformation préalable qu'ils leur font subir, à l'aide d'une diastase qu'ils sécrètent eux-mêmes, et qui semble identique à celles qui agissent chez les végétaux et dans le canal digestif des animaux.

Examinons, en effet, à ce point de vue, les principales diastases qui interviennent dans la nutrition animale et végétale. Pour bien les distinguer les

unes des autres et éviter, dans l'étude que nous allons en faire, les circonlocutions qui servent d'ordinaire à les caractériser, nous leur donnerons des noms spéciaux choisis, non pour leur valeur étymologique, mais de façon à rendre toute confusion difficile avec des termes existant déjà dans la science.

Nous appellerons *amylase* la diastase qui rend soluble la fécule hydratée de graines ou de pommes de terre, *sucrase* la diastase qui transforme le sucre candi en sucre incristallisable, *caséase* la diastase qui liquéfie la caséine coagulée ou précipitée. Quant à la diastase qui sépare la caséine du lait sous forme insoluble, nous lui conserverons son nom ancien de présure. Nous conserverons aussi le nom de pepsine à la diastase qui, associée à l'acide chlorhydrique, agit dans l'estomac sur certains éléments du muscle, et nous nous bornerons, pour le moment, à ces cinq diastases qui sont les mieux connues. Examinons-les séparément.

Amylase. — M. Dubrunfaut a reconnu, en 1823, qu'en mélangeant à de l'empois de fécule un peu de malt en farine délayé dans de l'eau tiède, et en exposant le tout pendant un quart d'heure à une température voisine de 65°, on trouvait au bout de ce temps, à la place du mélange épais, une masse fluide, dont la saveur, d'abord douceâtre, devenait ensuite de plus en plus sucrée, et qui finissait, au bout de deux heures, par être capable de subir la fermentation alcoolique.

Le même savant reconnut vers 1830 que l'infusion de malt jouissait de la même propriété que le malt en farine. En 1833, Payen et Persoz firent voir qu'on pouvait retirer la substance active de l'infusion de malt en la précipitant par l'alcool. On obtenait ainsi un produit altéré, nous le verrons, que Payen et Persoz ont cru à tort dénué d'azote, mais qui, d'après eux, pouvait liquéfier et saccharifier simultanément « 2 000 fois son poids de fécule ». Cette assertion est passée sans contrôle dans la science, mais il est probable qu'il faut lire 2 000 fois le poids d'empois de fécule, c'est-à-dire environ de 50 à 100 fois le poids de fécule crue, ce qui est encore beaucoup. En 1836, M. Dubrunfaut montra qu'en fractionnant les précipitations par l'alcool, on pouvait avoir un produit, plus actif que celui de Payen, azoté, liquéfiant 150 à 200 000 fois son poids de fécule (sans doute aussi d'empois de fécule) et saccharifiant environ 100 fois son poids de fécule (ici, c'est bien sans doute 100 fois le poids de fécule crue).

Cette amylase n'existe pas dans le grain d'une façon continue. Elle se forme au moment de la germination, et bien que Payen dise qu'elle est surtout présente au collet de la jeune plante, sur le trajet que doivent suivre les aliments déposés dans la graine pour servir à la nutrition du jeune végétal, on la trouve en réalité opérant simultanément sur tous les points de la graine, partout où il y a un grain d'amidon à utiliser. On retrouve cette diastase dans les tubercules en germination, dans les racines amylacées, et elle semble être la même partout.

Chez les animaux, c'est le pancréas qui est chargé de la digestion des féculents, et il sécrète pour cela de l'amylase, dont MM. Bouchardat et Sandras ont les premiers démontré la présence. Un peu auparavant, M. Mialhe avait trouvé et cherché à isoler dans la salive le même principe actif. Mais ici, contrai-

rement à ce que se passe pour le pancréas, le tissu de la glande n'a pas la même activité que le liquide qui en découle. Il y a même plus : chez le chien et le cheval, les salives qu'on peut isoler, à savoir les salives parotidienne, sous-maxillaire, et sublinguale, isolées ou mélangées en dehors de la bouche, ne contiennent pas d'amylase, tandis que la salive mixte, prélevée dans la bouche de ces mêmes animaux, en renferme. Cl. Bernard en a conclu qu'elle y avait été apportée par la salive provenant des glandules buccales, qu'il n'avait pu isoler, mais il a méconnu dans cette conclusion l'influence des ferments qui remplissent d'ordinaire les liquides de la bouche, et qui suffisent à donner à la salive les propriétés que Miahle y a découvertes.

Chez tous les animaux, en effet, et surtout chez ceux qui se nourrissent de fécule cuite, par exemple chez l'homme qui mange du pain, il y a constamment dans la bouche, tapissant la cavité buccale, pénétrant même quelquefois assez profondément dans les conduits salivaires, des ferments de l'amidon, sécrétant en grande abondance de l'amylase. Sans doute cela ne prouve pas que la salive n'en contienne pas normalement; mais pourtant, chez l'homme, les salives parotidienne, sous-maxillaire et sublinguale n'en contiennent pas, les glandes correspondantes n'en fournissent pas davantage, à moins que la macération n'en soit ancienne et déjà altérée. Je me suis assuré, de plus, qu'en se soumettant à une salivation prolongée et continue, la salive produite devenait de moins en moins active, au fur et à mesure que les conduits salivaires et la bouche étaient mieux débarrassés des matériaux solides qui les recouvrent, ou des liquides qui en imprègnent d'ordinaire les cellules superficielles.

Cl. Bernard avait remarqué d'ailleurs, dans l'étude de cette question, des faits singuliers en désaccord avec les lois physiologiques. Il avait trouvé à la salive une activité d'autant plus grande qu'elle était sécrétée dans des conditions plus morbides, par exemple dans la salivation mercurielle. Ce fait s'explique parfaitement par l'action des ferments, toujours très abondants dans la bouche d'un malade, où la salive s'écoule d'une façon lente, mais continue. C'est ainsi encore que Cl. Bernard avait vu la salive bouillie perdre toute action, l'amylase ne résistant en effet pas à l'ébullition ; mais la salive reprenait sa propriété au bout de quelques jours. L'intervention des ferments est ici très évidente. Concluons donc que c'est aux ferments qu'il faut attribuer celle qu'on rencontre dans la salive, et dont la présence est du reste sans grande importance, car Cl. Bernard avait bien vu qu'elle n'intervenait guère dans la digestion. Elle a une action trop lente pour agir pendant le court séjour que font les aliments dans la bouche, et, dans l'estomac, l'acidité du suc gastrique paralyse son action.

C'est le pancréas qui est l'agent de la digestion de la fécule cuite. Mais il y a dans l'organisme un autre point où se fait aussi une digestion de fécule, c'est le foie. On sait que Cl. Bernard y a trouvé une sorte d'amidon animal, le glycogène, qui d'ordinaire est consommé au fur et à mesure de sa production. Corrélativement, on trouve de l'amylase dans le foie frais. Enfin, chez certains animaux, surtout chez ceux qui subissent des métamorphoses, on trouve encore cette corrélation entre la digestion du glycogène et l'existence d'une diastase capable d'agir sur l'amidon. « Par exemple, dit Cl. Bernard, si nous considérons

la larve de la mouche ordinaire, *musca lucilia*, l'asticot, pour l'appeler de son nom vulgaire, nous trouvons qu'elle contient une énorme quantité d'amidon. C'est un véritable sac de glycogène. Pendant ce temps, on n'y trouve pas autre chose que du glycogène et point de trace de sucre. La raison en est que la diastase n'existe pas encore; mais bientôt la chrysalide va succéder à la larve, et alors, dans cette nouvelle phase de l'existence où se construit l'animal parfait, la réserve de glycogène devra être utilisée. La diastase apparaît, et l'amidon est liquéfié.

« Quelque chose d'analogue se manifeste chez des êtres bien plus élevés, par exemple chez les mammifères, dans ces temps de la vie embryonnaire où la nutrition est précipitée, où l'activité plastique et formative atteint son plus haut degré. La matière glycogène, déposée en divers points du fœtus et de ses enveloppes, entre alors en mouvement. Elle est dissoute et transformée en sucre. »

D'un bout à l'autre de l'échelle animale et végétale, la dissolution et la liquéfaction de l'amidon semblent donc se faire par le même moyen. Il est vrai que tant qu'on ne connaît pas la diastase à l'état pur, il est difficile d'affirmer qu'elle soit partout identique à elle-même. La seule preuve à donner à ce sujet consisterait à montrer qu'elle a toujours la même force et les mêmes propriétés, et on ne le peut tant qu'on ne la connaît qu'à l'état de mélange. Mais, ce qu'on peut dire, c'est qu'elle a toujours son maximum d'effet à la même température, qu'elle fait toujours, de l'amidon, un mélange de dextrine et de maltose, comme nous le verrons tout à l'heure, en un mot que, quelle que soit son origine, elle possède, à des degrés divers qui dépendent de son état de pureté, toutes les propriétés que nous serons conduits à lui attribuer, quand, après avoir étudié son origine, nous en arriverons à son étude chimique et physiologique.

Sucrase. — Le sucre cristallisable n'est pas alimentaire pour les animaux. Il est impropre aux échanges nutritifs ; si l'on en injecte une quantité déterminée dans les veines ou le tissu cellulaire d'un animal, il est peu à peu éliminé par le rein, émonctoire naturel des produits inertes ou usés. On le retrouve poids pour poids dans les sécrétions.

Il n'est pas non plus assiminable par les végétaux. La betterave, la canne à sucre, qui en fabriquent, le déposent dans leurs tissus à l'état de réserves nutritives, attendant le moment d'entrer en action. Ce moment vient quand la betterave doit bourgeonner, fleurir et fructifier, quand la canne à sucre doit fleurir. Dans les tissus de la plante apparaît alors une diastase, qu'on peut isoler, comme l'amylase, par l'action de l'alcool, et qui transforme le sucre de cannes, par fixation de deux molécules d'eau, en sucre interverti, lequel est un mélange en proportions probablement égales de deux glucoses exerçant des actions inverses sur la lumière polarisée. Chimiquement, la réaction se traduit par l'apparition d'une propriété nouvelle, celle de réduire la liqueur de Fehling, que possède la solution de sucre interverti, et qui n'existait pas dans la solution initiale de sucre cristallisable.

Cette transformation peut être réalisée par les acides minéraux étendus d'eau, surtout si l'on fait agir la chaleur. Il n'y a donc pas à s'étonner si le sucre

candi se transforme, avec le temps, en sucre incristallisable dans l'estomac des animaux, où le suc gastrique renferme toujours un peu d'acide chlorhydrique libre. Mais cela se fait aussi sur d'autres points du canal digestif. Gardée quelque temps dans la bouche, ou bien maintenue pendant quelque temps dans une anse quelconque de l'intestin, entre deux ligatures, la dissolution de sucre candi acquiert la propriété de réduire la liqueur de Fehling. Ce fait se produit chez les animaux les plus divers, le chien, le lapin, les oiseaux, les grenouilles, les vers à soie, et on le trouverait probablement chez tous les animaux, car il paraît dû partout, non pas à une action physiologique de l'animal lui-même, mais aux êtres microscopiques qui existent sur toute la longueur de son canal intestinal, et parmi lesquels il est impossible qu'il n'y en ait pas de capables de vivre aux dépens du sucre candi.

Or, c'est une loi qui n'a pas encore rencontré d'exception, que tous les ferments du sucre cristallisable ne peuvent s'en servir pour leurs besoins physiologiques et nutritifs sans l'avoir au préalable interverti. C'est dans la levure que le fait a été reconnu pour la première fois par Döbereiner et Mitscherlich. Le dédoublement du sucre précède toute fermentation alcoolique. Plus tard, en 1860, M. Berthelot isola la sucrase en précipitant la levure par l'alcool, et montra que sa réaction est indépendante de l'état d'acidité ou d'alcalinité de la liqueur. Ce procédé de préparation affaiblit beaucoup la diastase, comme nous le verrons plus tard, et il est possible de préparer une substance plus active que celle qu'a obtenue M. Berthelot, et qui ne transformait que 50 à 100 fois son poids de sucre. Mais en nous bornant à ce chiffre, on voit qu'il faut extrêmement peu de diastase pour donner à une dissolution de sucre candi la propriété de réduire la liqueur de Fehling.

On s'explique ainsi les résultats de M. Béchamp qui avait vu une foule de végétations cryptogamiques, développées spontanément dans des dissolutions sucrées et y vivant péniblement, y provoquer cependant l'interversion du sucre. On s'explique de la même façon un fait vulgaire, du même ordre, observé dans les chambres de malades. Un verre d'eau sucrée s'affadit quelquefois du jour au lendemain, surtout s'il est préparé dans un verre servant souvent à cet usage. Le sucre y a apporté, ou les lèvres du malade y ont laissé des germes que le microscope révèle, souvent si peu nombreux qu'ils ne troublent pas la limpidité du liquide, mais qui suffisent à transformer en quelques heures le sucre en glucose, dont la saveur sucrée est, à dose égale, trois fois moins intense à peu près que celle du sucre en pains. De là le changement de goût de la liqueur.

Si l'on songe maintenant que le sucre est certainement l'aliment le plus répandu chez les espèces microscopiques, on ne s'étonnera pas que partout où il y a un mélange de ferments, comme, par exemple, dans le canal digestif de tous les animaux, il y ait en même temps, et toujours, des diastases inversives du sucre. On est même autorisé à dire que la nature n'a pas pourvu physiologiquement à une transformation du sucre candi dans le canal digestif des animaux, car le suc gastrique, le seul liquide normal de l'économie qu'on connaisse muni de cette propriété, ne la présente pas comme fonction principale, et, d'ailleurs, à cause de la rapidité de l'absorption stomacale, une grande par-

tie du sucre est lancée dans la circulation avant d'avoir pu s'intervertir. C'est le foie qui paraît l'organe digestif véritable du sucre candi. Nous avons dit plus haut que ce sucre, injecté dans les veines, reparaissait dans les urines, mais si l'on l'injecte dans les artères, de façon à lui faire traverser le foie, il n'est plus éliminé. Il subit évidemment au passage une transformation qui le rend assimilable.

Dans les végétaux qui utilisent leurs réserves de sucre, c'est encore par l'action de la sucrase que ce sucre est interverti. Cl. Bernard a trouvé ce ferment dans la betterave en germination, alors qu'il n'existe pas, fort heureusement, dans la betterave qu'on vient d'arracher pour l'exploitation du sucre, C'est donc encore ici le même mécanisme qui entre en jeu dans les êtres supérieurs et dans le monde des ferments. Partout on retrouve la même sucrase. comme la même amylase. J'ajoute que, contrairement à ce qu'on croit d'ordinaire, ces deux diastases sont tout à fait différentes l'une de l'autre.

Présure, caséase et pepsine. — Nous étudierons ensemble ces trois diastases à cause des relations qui les unissent. L'estomac du jeune mammifère encore en lactation ne contient que de la présure, c'est-à-dire une substance capable de provoquer, à une température convenable, la coagulation du lait, mais incapable de s'attaquer d'une façon quelconque au coagulum qu'elle a formé. Au fur et à mesure que l'animal vieillit et change son alimentation, la présure disparaît de son estomac pour y être remplacée par de la pepsine, et finalement, on ne trouve plus que celle-ci dans l'estomac des êtres qui ne boivent plus de lait à l'état adulte.

Dans un pareil estomac, le lait ingéré est coagulé, comme chez le mammifère en lactation, mais par un tout autre mécanisme. C'est non plus la présure, mais l'acidité du suc gastrique qui intervient. Cette ressemblance d'action a fait souvent confondre la présure et le suc gastrique; mais ces deux corps n'en sont pas moins parfaitement distincts.

Nous avons dit que la présure était incapable de toucher au coagulum de caséine qu'elle avait formé. Il en est de même pour le suc gastrique. De sorte qu'en définitive, ni chez l'animal jeune, ni chez l'animal adulte, le lait n'est physiologiquement digéré dans l'estomac. Grâce à leur demi-liquidité, et à moins qu'ils ne soient englobés et malaxés dans une masse de matières alimentaires, comme cela arrive chez le veau qu'on commence à nourrir avec de l'herbe, les caillots de caséum franchissent le pylore et ne sont digérés que par le suc pancréatique.

Comme dans tous les cas qui précèdent, nous retrouvons, chez les infiniment petits capables de vivre aux dépens de la caséine du lait, la présure de l'estomac des animaux en lactation et la caséase du pancréas, de sorte qu'ici encore, l'assimilation sera parfaite. Mais, comme nous sommes là sur un terrain nouveau, où la science n'est pas encore bien assise, et où il est prudent de ne pas encore affirmer autre chose que des faits particuliers, nous devons entrer dans quelques détails, qui donneront leur sens et leur valeur aux propositions que nous avons énoncées.

L'estomac du jeune mammifère en lactation, avons-nous dit, ne renferme que

de la présure, capable de coaguler la caséine du lait, mais incapable de transformer d'une façon quelconque et de redissoudre le coagulum qu'elle a formé. Pour bien mettre ce fait en évidence, il faut faire agir de la présure sur du lait, et comme le temps est un facteur important de tous ces phénomènes de digestion, il faut maintenir ces deux corps en contact pendant un temps suffisant pour que l'action, si elle est possible, ait le temps de s'accomplir. Il faut, de plus, les protéger contre l'invasion des ferments, très capables de vivre dans un milieu organique aussi riche, et pouvant introduire dans l'expérience des causes d'erreur par les diastases qu'il peuvent eux-mêmes sécréter. Le lait peut être facilement stérilisé par l'action d'une température convenable, mais pour la diastase, on ne peut la chauffer à 100° sans la détruire. Il faut donc employer un autre moyen de stérilisation que l'action de la chaleur. Nous allons y arriver en utilisant la filtration au travers d'un diaphragme de terre de pipe, proposé par MM. Klebs et Tiegel pour cet usage, et voici quel est le meilleur procédé expérimental à employer. Nous aurons l'occasion de nous en servir fréquemment dans la suite de nos études.

Le vase A (fig. 33) est un ballon ordinaire dont on a effilé le col en *a*, et auquel on a soudé les deux tubulures *b* et *c*, dont l'une est effilée vers le bas et fermée.

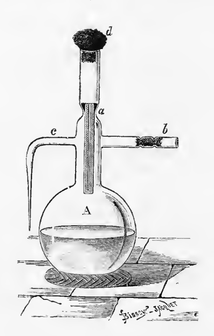


Fig. 33.

L'autre reste ouverte, fermée seulement par un tampon de coton. On pousse par l'effilure *a* un tube en terre poreuse, analogue à un tuyau de pipe, mais fermé par le bas. On le serre fortement contre les parois de l'effilure à l'aide d'un bourrelet d'ouate ou de chanvre très fin. On ferme aussi le col du ballon avec le tampon de coton *d*, et les choses étant en l'état, on porte le tout, dans

un poêle à gaz, à une température de 150 ou 160°. Tout ce qu'il y avait de germes vivants dans le ballon est détruit par la chaleur. L'air qui y rentre par refroidissement filtre sur du coton calciné et y laisse ses germes, de sorte que tout l'intérieur est stérilisé.

On coule alors avec précaution, autour de l'orifice supérieur du tube poreux, une gouttelette de mastic Golaz destiné à produire une fermeture hermétique. On flambe, dans la flamme d'une lampe à alcool, l'extrémité effilée, on la brise, on la repasse dans la flamme, et on la plonge de suite dans du lait, qu'on a stérilisé aussi en le portant à 115° dans un vase scellé. En aspirant en *b*, on introduit du lait jusqu'à 1 ou 2 centimètres au-dessous de l'extrémité du tube poreux, on laisse couler doucement le liquide restant dans l'effilure, que l'on ferme à la lampe. On introduit ensuite dans le réservoir supérieur le liquide qu'on veut amener en contact avec le lait, la présure, dans le cas qui nous occupe, délayée dans une petite quantité d'eau, et on attelle le tout par *b* à une machine pneumatique, à l'aide de laquelle on fait le vide en A. Le mastic Golaz qu'on a mis autour de l'orifice du tube poreux empêche tout autre passage qu'au travers des parois du tube, qui débarrassent le liquide qui filtre de tous les éléments solides que ce liquide pourrait contenir, et, en particulier, des germes, de sorte que la présure arrive stérile au contact du lait stérilisé, et qu'on peut exposer le tout à l'étuve, si l'opération a été bien faite, sans crainte d'y voir intervenir quoi que ce soit d'étranger à l'action que l'on veut étudier.

On constate ainsi qu'après un très long temps le caséum, même mis en présence de quantités de présure de beaucoup supérieures à celles qui peuvent le coaguler, conserve sa forme blanche solide, sous laquelle il serait absolument impropre à l'absorption intestinale.

Soumis de même à l'action du suc gastrique acide, le caséum se comporte de même. Il se forme, sous l'influence de l'acide, une sorte de gâteau de caséine qui, peu à peu, se rétracte sur lui-même et diminue de volume, mais conserve ses angles, sa forme, et ne subit aucune apparence de liquéfaction ou de digestion.

Si, dans ce même vase où le caséum reste inaltéré, on fait arriver un liquide alcalin stérilisé, qui sature l'acide du suc gastrique, on voit le caséum se redissoudre peu à peu. Le suc gastrique peut donc agir sur le caséum qui s'en est imprégné, lorsqu'après avoir quitté l'estomac, ce mélange rencontre la bile dans la première partie de l'intestin grêle. Mais le temps du contact mutuel de ces trois substances est trop court pour que l'action sur le caséum ait le temps de se produire. C'est le suc pancréatique qui est l'agent principal de digestion de ce corps.

On pourrait, pour étudier les propriétés de ce suc avec la rigueur que nous nous sommes imposée, le traiter comme le suc gastrique de tout à l'heure. Mais il y a à cela deux difficultés. L'opération à faire pour aller recueillir le suc pancréatique sur un animal vivant est des plus délicates, et ne fournit jamais qu'un suc plus ou moins altéré, toujours envahi par les infiniment petits, et toujours mêlé, par conséquent, de leurs diastases, dont nous voulons éviter la présence. De plus, ce suc, un peu visqueux, filtre mal ou pas au travers des cloisons poreuses, et il est, d'autre part, tellement altérable qu'il ne saurait

rester quelques heures dans le col du ballon à filtre poreux, sans se peupler de ferments.

On évite toutes ces difficultés en opérant sur le pancréas lui-même. On sacrifie un animal en digestion, on découvre son pancréas le plus rapidement possible, on incise avec de fins ciseaux, qu'on vient de flamber, une portion de cet organe, qu'on porte aussitôt, avec une pince flambée aussi, dans un matras Pasteur renfermant la substance sur laquelle on veut essayer son action. Si le matras et son contenu ont été stérilisés d'avance, il n'y a, pendant l'opération, que deux voies de pénétration des ferments dans les matières en expérience, l'air, et le fragment de pancréas. On évite l'influence des germes de l'air en opérant rapidement et en tenant le col du matras tout près du point où l'on a fait l'excision de l'organe. Quant au pancréas, on pourrait craindre qu'il ne renfermât aussi des germes, en songeant que l'organe est parcouru tout entier par des vaisseaux assez volumineux, débouchant dans une portion de l'intestin où il y a toujours des êtres vivants. Ces vaisseaux ne peuvent manquer d'en renfermer aussi, la sécrétion du pancréas étant intermittente, et on en trouve, en effet, en assez grand nombre pour qu'ils soient visibles au microscope, jusqu'à 1 ou 2 centimètres de l'orifice intestinal dans le chien. Quand on établit sur un pareil animal une fistule pancréatique, c'est en partie l'invasion primordiale du suc écoulé, par les ferments qu'il a apportés de la glande, qui explique sa facile altérabilité au contact de l'air et la putréfaction rapide de la sécrétion. Mais il n'y en a guère plus loin de l'orifice, et si, pour plus de sûreté, on découpe les fragments de pancréas à l'extrémité de la glande, on a bien des chances de ne pas introduire avec eux des germes nuisibles au succès de l'expérience. On n'accorde, du reste, créance aux résultats, que lorsqu'il n'y a pas eu apparition d'êtres vivants dans le matras.

Un fragment de pancréas de chien, pesant quelques milligrammes, introduit de cette façon dans une dizaine de centimètres cubes de lait, les transforme en quelques heures, deux ou trois, à la température de 25°, et sans coagulation apparente, en un liquide opalescent, presque limpide, et que la présure ne coagule plus. Les acides, même aidés de l'action de la chaleur, n'y déterminent qu'un précipité très faible ou même nul. Il ne contient donc plus de caséine. Il ne précipite plus par le ferrocyanure de potassium, même quand on acidule par un peu d'acide acétique. Il jouit des propriétés des peptones. C'est du lait digéré, apte à subir l'absorption intestinale. C'est donc le pancréas qui est l'agent de la digestion de la caséine.

Présure et caséase des microbes. — Étudions maintenant, au même point de vue des diastases actives, les ferments de la caséine, dont on trouvera plus loin l'histoire physiologique. L'un quelconque d'entre eux, ensemencé dans du lait stérilisé, le coagule d'abord, puis redissout plus ou moins rapidement le coagulum formé, sans amener de changement dans la réaction de la liqueur. Prenons ce liquide, précipitons-le par l'alcool de façon à isoler les diastases, que nous redissoudrons ensuite dans l'eau et que nous étudierons, comme tout à l'heure, en les stérilisant par filtration au travers d'un filtre poreux, et en les faisant arriver sur du lait nouveau.

Le lait ainsi traité se coagule d'abord, puis le coagulum se redissout et se transforme en un liquide opalescent comme celui que fournissait l'action du pancréas. La caséine transformée, qu'il tient en dissolution, présente les mêmes réactions que tout à l'heure. Les ferments de la caséine sécrètent donc de la présure et de la caséase mélangées. L'expérience montre qu'ils les sécrètent en proportions variables d'une espèce à l'autre, mais assez constantes pour chacune d'elles.

Les effets qu'ils produisent dans le lait dépendent naturellement de la proportion dans laquelle ils sécrètent leurs diastases. Aucun d'eux ne fournit naturellement le coagulum ferme, résistant et inaltérable que donne l'action de la présure de veau, parce qu'aucun ne sécrète de la présure pure. Pour bien étudier leur action complexe, faisons arriver par petites portions, dans du lait, le mélange de diastases provenant de l'action d'un ferment que nous apprendrons à connaître sous le nom de *tyrothrix tenuis*. Nous opérons toujours dans le ballon à filtre poreux.

Si nous ajoutons tout d'abord une faible quantité de cette diastase à du lait, ce lait se coagule comme avec la présure de veau, mais en donnant un caillot moins opaque. De plus ce caillot, au lieu de rester ferme et cohérent, va devenir de plus en plus gélatineux et finira par se résoudre tout entier en un liquide transparent, un peu opalescent encore, ressemblant à du sérum un peu louche.

Si, après coagulation, on rajoute, par filtration au travers de la cloison poreuse, de nouvelle diastase, et si l'on agite bien de façon à mélanger le tout intimement, la transformation est plus rapide. Si, sur un deuxième échantillon de lait identique au premier, on fait passer en une seule fois tout ce qu'on a ajouté en deux reprises au premier, il arrive fréquemment qu'ici la coagulation n'a plus lieu, que le lait se décolore en restant liquide, et on trouve qu'il n'y met ni plus ni moins de temps que lorsqu'il a subi une coagulation préalable. La formation du caillé n'entrave donc pas la redissolution de la caséine, mais à la condition que ce caillé soit complètement imprégné de son liquide digestif, car lorsqu'il est en grumeaux solides qui doivent être attaqués de l'extérieur, sa liquidification devient naturellement beaucoup plus lente.

Cette décoloration du lait, sans coagulation préalable, se produira plus facilement, si, dans la diastase qu'on y introduit, la caséase est en excès sur la présure. Enfin elle dépendra aussi de la température. La présure a besoin, comme nous le verrons, d'agir au-dessus de 20°; au-dessous, elle reste inerte. La caséase peut agir à toutes les températures, bien qu'elle préfère celles qui sont voisines de 30 à 35°. Si donc le lait est au froid, cette dernière agira seule, avec plus de lenteur, mais avec une très grande sûreté. Elle ne semble même pas avoir besoin, pour manifester son action, d'être en quantités bien grandes, lorsqu'on lui laisse le temps comme facteur.

Quand on en ajoute une quantité suffisante, l'action peut devenir très rapide. La présence de la présure passe inaperçue, et quelques minutes suffisent à la décoloration du lait, et à sa transformation en un liquide opalescent où il n'y a plus de caséine.

Nous retrouvons donc, comme nous l'avions annoncé, les mêmes diastases

dans le monde des ferments et dans celui des animaux supérieurs. Nous pouvons ajouter de suite qu'on en retrouve de pareilles dans le monde végétal. Un grand nombre de sucs végétaux ont la propriété de coaguler le lait comme la présure. Tel est le suc du figuier. D'après Bouchardat et Sandras, 5 grammes de fleurs d'artichaut suffisent à coaguler 100 grammes de lait à 25° ou 30°, et le coagulum, au lieu d'être ferme, est toujours gélatineux, ce qui semble indiquer la présence de la caséase. Enfin, quelques auteurs accordent, si d'autres refusent, au jus frais du *galium verum* la propriété de coaguler le lait. Leurs résultats différents s'expliquent peut-être par ce fait que les diastases, chez cette plante, n'apparaissent qu'à de certains moments de la végétation, comme la sucrase de la betterave.

D'un autre côté, M. Gorup Besanez a montré que la graine de vesce renfermait, en outre d'une diastase capable de liquéfier l'amidon, une autre diastase pouvant, comme celle du suc gastrique, dissoudre de la fibrine gonflée par un peu d'acide chlorhydrique.

Nous retrouverons tout à l'heure ces diastases végétales dans l'étude générale des diastases que nous allons commencer, mais ce que nous avons dit suffit pour prouver que les diastases des matières albuminoïdes sont les mêmes dans toutes les cellules vivantes.

BIBLIOGRAPHIE

Dubrunfaut. — *Comptes rendus*, 1823-1836.
Payen et Persoz. — *Ann. de chim. et de phys.*, t. LXVI.
Cl. Bernard. — *Leçons sur la digestion*, Paris, et *Revue scientifique*, p. 513.
Dobereiner. — *Journal de Schweigger*, t. XII.
Mitscherlich. — *Comptes rendus de l'Ac. de Berlin*, 1813.
Klebs et Tiegel. — *Schweizerische Correspondenz-Blatt*, t. I, p. 275.
Berthelot. — *Comptes rendus*, 1860.
Béchamp. — *Comptes rendus*, janvier 1858.
Duclaux. — Mémoire sur le lait. *Ann. de l'Institut agronomique*, 1882.

CHAPITRE X

ROLE DES DIASTASES

Les faits que nous avons consignés aux chapitres précédents montrent que les diastases entrent, comme rouage important et quelquefois nécessaire, dans le mécanisme de la nutrition de toutes les cellules vivantes, et ce haut caractère de généralité nous conduit à faire leur étude avant celle de l'alimentation de ces cellules, qui ne peut être convenablement traitée que dans une série d'histoires particulières. Nous passerons successivement en revue les diverses diastases connues, les moyens de les préparer, les conditions physiques et chimiques qui en favorisent ou en paralysent l'action, enfin, le mécanisme de leur formation dans les cellules qui les produisent.

Diastases diverses. — Les besoins variables de la nutrition des diverses cellules vivantes exigent l'intervention d'autres diastases que celles que nous avons rencontrées au chapitre précédent, et que nous n'avons envisagées à part qu'à titre d'exemples, parce qu'elles sont les mieux connues. La science en a catalogué, en effet, un grand nombre, que nous classerons assez facilement en nous rapportant à leur fonction unique, celle de permettre l'assimilation des divers matériaux alimentaires.

Diastases de la digestion animale. — Les aliments, mastiqués dans la bouche, s'imprègnent de salive dans laquelle on admet l'existence d'une diastase, appelée *ptyaline*, à laquelle on accorde assez communément une double faculté, celle de transformer le sucre cristallisable en glucose, et l'amidon cuit, en maltose et dextrine. L'ensemble de ce que nous savons sur les diastases autorise à croire que cette ptyaline n'est qu'un mélange de sucrase et d'amylase, et n'est pas une sécrétion normale de l'organisme.

Plus loin, dans l'estomac, ils rencontrent la pepsine, dont le caractère le plus curieux est de ne pouvoir agir qu'en présence d'un acide libre, qui paraît pouvoir être indifféremment l'acide chlorhydrique ou l'acide lactique. Ainsi acidifiée, cette pepsine possède la faculté de liquéfier la fibrine, l'albumine, et, en général, les aliments albuminoïdes. On lui attribue aussi la faculté d'agir sur

les aliments féculents pour les liquéfier, et sur les dissolutions de sucre cristallisable pour les intervertir. Nous verrons bientôt ce qu'il faut penser de ces deux dernières propriétés.

Dans la bile, certains physiologistes ont voulu trouver des diastases actives, mais on admet d'ordinaire qu'il n'en existe pas en quantités sensibles. En revanche, le suc pancréatique est considéré comme en renfermant plusieurs. Il y a d'abord une diastase agissant sur les aliments albuminoïdes et terminant l'action que le suc gastrique a ébauchée. Il y en a une autre, agissant sur les matières féculentes et les transformant en dextrine et en maltose. Il y en a une dernière douée de la propriété d'émulsionner et d'acidifier les corps gras. Ces trois ordres de propriétés sont-ils communs à la même diastase, ou appartiennent-ils à trois diastases diverses? C'est ce qu'aucune expérience bien précise ne permet de décider.

Enfin, dans le canal intestinal, on retrouve une nouvelle édition des diastases déjà entrées en action sur les autres points du tube digestif. De sorte que si, dans l'état actuel de la science, on veut préciser le point où se fait la transformation digestive d'un aliment quelconque, il semble qu'il n'y en ait pas. Il y a un pêle-mêle de diastases, qu'on a considéré comme n'étant pas trop en désaccord avec le pêle-mêle de la masse alimentaire.

Admettons qu'en revenant ainsi plusieurs fois à la charge, les diastases du canal digestif finissent par épuiser leur action. On sait que la digestion n'est pas encore finie. On peut même dire qu'elle n'est pas commencée, que tout ce mécanisme préliminaire n'a pour objet que de préparer l'*absorption*, mais que la *digestion* réelle, c'est-à-dire la transformation en éléments assimilables, exige l'intervention d'un autre organe, le foie, qui est, à beaucoup d'égards, la véritable porte d'entrée de l'organisme. Du sucre candi, de l'albumine crue peuvent avoir été absorbés en nature sur divers points du tube digestif. Leur passage au travers du foie leur donne la qualité assimilable et les empêche de passer dans l'urine, où elles arrivent immanquablement, on le sait par les belles expériences de Cl. Bernard, si on les injecte directement dans les veines, ce qui les lance dans la circulation sans qu'il y ait eu passage au travers du foie. Pour donner cette qualité assimilable aux matériaux qui le traversent, le foie doit renfermer aussi des diastases. On n'y connaît bien qu'une diastase, découverte par Cl. Bernard, et pouvant à la fois liquéfier le glycogène du foie, et transformer l'amidon en dextrine et en maltose.

Nous n'avons parlé jusqu'ici que des aliments albuminoïdes, sucrés et féculents. Dans ces derniers, la résistance aux sucs digestifs est très variable. Les portions intérieures du grain d'amidon sont les premières digérées. Les portions extérieures résistent mieux, et je montrerai même que la couche extérieure du grain d'amidon est formée de cellulose véritable. Cette cellulose elle-même, du grain d'amidon, est quelquefois digérée. Nous pouvons donc nous poser la question : la cellulose est-elle assimilable?

La pratique répond oui, mais la science est obligée de dire non, parce qu'elle ne connaît pas, qu'elle n'a pas rencontré dans le tube digestif de diastase dissolvante de la cellulose. Je me suis pourtant assuré que les oiseaux granivores, en particulier les pigeons, se l'assimilaient très bien. Ces animaux, nourris

avec des graines diverses, ne laissent dans leurs matières excrémentitielles qu'une quantité de cellulose, inattaquable par les acides et les alcalis étendus, inférieure à la quantité ingérée. Dans une expérience de nutrition avec l'orge perlé, qui a duré dix jours, j'ai trouvé que deux pigeons avaient digéré 2gr,7 de cellulose sur 11gr,2 qu'ils avaient ingérés.

D'un autre côté, les expériences de Henneberg, de Stohmann, et d'autres expérimentateurs, avaient montré que le mouton et le bœuf digéraient plus de la moitié de la cellulose ingérée. Le même fait se produit dans le canal digestif de l'homme. M. Schmulewitsch a trouvé que le lapin, nourri de feuilles de choux raves, digérait 90 p. 100 de la cellulose absorbée. Avec une ligature sur le conduit pancréatique, il en digérait encore 45 à 50 p. 100.

La cellulose est donc alimentaire pour des animaux supérieurs. Elle l'est sûrement aussi, comme nous le montrerons, pour les cellules de quelques ferments, qui sécrètent pour cela une diastase spéciale, et qui sont probablement, comme nous le verrons, les agents de digestion de la cellulose dans les animaux supérieurs. De là certainement une diastase nouvelle à ajouter aux diastases entrant en jeu dans l'organisme.

Diastases de la digestion végétale. — Dans l'alimentation végétale, nous avons vu qu'il y avait des nécessités de même ordre que dans l'alimentation animale, que les mêmes aliments servaient partout, et, corrélativement, nous avons retrouvé dans les végétaux la sucrase et l'amylase. Nous allons y trouver, en outre, des diastases digestives des matières albuminoïdes.

MM. Darwin et Hooker ont montré que certaines plantes carnivores, *Nepenthes, Drosera, Darlingtonia, Aldrovanda vesiculosa, Pinguicularia, Sarracenia,* émettent par divers points de leur surface, des sucs capables d'imprimer des modifications digestives aux matériaux albuminoïdes, et même aux êtres vivants arrivant à leur contact. MM. Gorup Besanez et Will ont retiré de ces sucs une sorte de pepsine végétale. MM. Wurtz et Bouchut ont retrouvé une diastase analogue dans le suc du *Carica papaya*. M. Bouchut dans le suc du figuier, et ce dernier croit même qu'on en retrouverait dans tous les latex, qu'il considère comme doués d'une propriété carnivore générale. Toutes les observations faites sur ce sujet ne sont pas également probantes; il en est qui ont été évidemment faussées par l'apparition des infiniment petits, contre l'influence desquels on ne s'est pas toujours mis en garde, qu'on a combattus par des moyens insuffisants, tels que l'acide prussique qui en laisse vivre beaucoup, ou qu'on a jugés absents parce que le liquide ne devenait pas putride, ce qui est une preuve tout à fait insuffisante, la putridité n'accompagnant jamais les ferments aérobies qui sont précisément les plus actifs producteurs de diastases. Mais si l'influence de ces causes d'erreur est de nature à invalider quelques expériences particulières et quelques conclusions trop absolues, elles ne changent pas le sens général des expériences, dont voici les conclusions qui nous semblent le plus solidement établies :

Des sucs des plantes que nous avons énumérées plus haut, il en est, comme par exemple celui des Drosera, qui n'agissent qu'en liquide acide. Ils rappellent donc tout à fait la pepsine. D'après Darwin, le suc de Drosera, qui dissout l'albu-

mine, la fibrine et le tissu musculaire, est sans action sur la cellulose, l'amidon et la graisse. Je choisis dans la liste des substances que dissout ou respecte ce suc, et dans laquelle il y a certainement des erreurs d'expérience; mais ce que j'en prends témoigne de l'analogie du suc de Drosera avec le suc gastrique.

Le suc du Carica papaya, d'après MM. Wurtz et Bouchut, est au contraire capable de digérer la fibrine non seulement en milieu acide, mais dans un milieu neutre ou même un peu alcalin. C'est la même propriété que celle que nous avons constatée plus haut avec le suc gastrique agissant sur la caséine. La fibrine semble être complètement dissoute, et l'a été quelquefois en proportions notables. La caséine résiste mieux. Celle qui s'est dissoute en plus fortes proportions avait été traitée par la soude et avait par suite été modifiée.

Le ferment digestif du suc de figuier, d'après M. Bouchut, agit aussi dans un liquide neutre, et semble très actif. Mais la mesure de son activité, déduite d'une expérience qui a duré *un mois*, a été certainement troublée par l'invasion des infiniment petits.

Quoi qu'il en soit, on voit que nous retrouvons dans les plantes les mêmes diastases des matières hydrocarbonées et azotées que nous avons constatées déjà dans le règne animal. On peut dire que ces diastases sont d'ordre général, mais il y a, en outre, des diastases liées à un mode d'évolution particulier de certains matériaux nutritifs de la vie végétale.

Dans les amandes douces et amères, on rencontre une diastase, nommée *émulsine* ou mieux *synaptase*, et qui dédouble l'amygdaline en glucose, acide cyanhydrique et hydrure de benzoïle. Dans les amandes douces, l'amygdaline manque, mais il y en a dans les amandes amères, contenue dans d'autres cellules que la synaptase, et restant intacte tant qu'on ne broie pas l'amande avec de l'eau, et qu'on ne met pas ainsi en contact les deux éléments pouvant agir l'un sur l'autre. Cette réaction peut se produire dans l'organisme, et quand on injecte dans les veines d'un animal, d'un côté, de l'amygdaline, de l'autre, de la synaptase, l'animal meurt avec les symptômes d'un empoisonnement par l'acide prussique.

En outre de ce dédoublement, la synaptase peut en provoquer un grand nombre d'autres. Elle décompose la salicine en glucose et saligénine, la chlorosalicine en glucose et chlorosaligénine, l'hélicine en glucose et hydrure de salicyle, la phloridzine en glucose et phlorétine, l'arbutine en glucose et hydroquinone, l'esculine en glucose et esculétine, la daphnine en glucose et daphnétine, la coniférine en glucose et en un principe qui, oxydé, donne la vanilline, principe odorant de la vanille. Le glucose est, comme on voit, un élément constant de ces dédoublements, et on peut rapprocher la synaptase de l'amylase qui, elle aussi, donne naissance à une espèce de glucose, par un véritable phénomène de dédoublement.

Dans les graines de crucifères ou de moutarde blanche, on rencontre une diastase qu'on appelle *myrosine*, et qui y passe inaperçue, comme la synaptase dans les amandes douces, parce qu'elle n'y rencontre pas le principe sur lequel elle peut exercer son action de dédoublement; elle le rencontre, au contraire, dans la graine de moutarde noire, dont la farine, broyée avec de l'eau, dégage l'odeur bien connue du sinapisme, et développe un produit de saveur

brûlante. Ce principe, cristallisable comme beaucoup de ceux que nous avons rencontrés jusqu'ici, est du myronate de potasse, se dédoublant sous l'influence de la myrosine en glucose, sulfocyanure d'allyle et bisulfate de potasse. On voit que le glucose est encore ici un élément du dédoublement.

On rencontre beaucoup d'autres exemples de substances végétales dédoublables naturellement et artificiellement en produits nouveaux au nombre desquels figure le glucose, et qu'à raison de ce fait on nomme *glucosides*.

La racine de garance, lorsqu'elle est fraîche, contient l'alizarine et les autres matières colorantes insolubles sous forme de glucosides solubles, qu'une diastase de cette même racine, l'*érythrozyme*, dédouble dès que la garance en poudre est humectée avec de l'eau. D'après quelques expériences que j'ai faites, il semble en être de même pour les matières colorantes du raisin. Il en est sûrement de même pour les matières colorantes des graines de nerprun.

Dans le cas de la garance, il n'est pas encore bien démontré que la production d'alizarine puisse se faire en dehors de l'ingérence des infiniment petits, et nous revenons ainsi à cette identité que nous avons signalée plus haut entre les diastases de cellules diverses.

Si nous envisageons maintenant les actions où les infiniment petits interviennent comme agents de dédoublement de produits végétaux complexes, nous trouvons des exemples très nombreux.

Nous verrons que le tannin de la noix de galle se dédouble, sous l'influence de certaines végétations microscopiques, en acide gallique et en glucose.

La *phyllirine* de l'écorce du *phyllirea latifolia*, et la populine de l'écorce du tremble ne se scindent pas sous l'influence de la synaptase, mais, mises à fermenter, elles se dédoublent, la première en glucose et phylligénine, la seconde en acide benzoïque et en salicine; celle-ci devient à son tour de la saligénine et du glucose, comme nous l'avons dit plus haut.

A cette action se rattache tout naturellement la décomposition de l'acide hippurique, de l'urine des herbivores, en acide benzoïque et en glycocolle. Puis, à cette dernière, on est obligé de rattacher aussi celle de l'urée en carbonate d'ammoniaque. Ces deux décompositions ont, comme nous le verrons, un lien chimique profond, sont réalisées sous l'influence du même être vivant et, sans doute aussi, de la même diastase.

Les acides biliaires, taurocholique et glycocholique, peuvent de même, lorsque la bile est abandonnée à la putréfaction, se dédoubler, le premier en taurine et acide cholalique, le second en glycocolle et acide cholalique.

Je laisse de côté un certain nombre d'actions plus obscures. Celles que j'indique suffisent pour montrer la variété des actions auxquelles président les diastases. Toutes ne sont pas également bien connues. Voici pourtant ce qu'il est possible de dire de général sur elles, c'est que toutes les fois que la substance sur laquelle elles agissent est assez simple pour que sa formule chimique soit bien connue, on peut affirmer qu'elles lui font éprouver une hydratation suivie d'un dédoublement. A ce sujet quelques détails sont nécessaires.

Sucrase. — Le sucre de cannes $C^{12}H^{11}O^{11}$ est caractérisé, au point de vue optique, par un pouvoir rotatoire moléculaire dextrogyre égal à $\alpha = +73.8$ ou

à $\alpha_d = +67.18$ suivant qu'on opère avec la teinte sensible de l'appareil Soleil ou la lumière monochromatique jaune de l'appareil Laurent. Soumis à l'action des acides, il se transforme, comme on sait, en sucre interverti, capable de réduire la liqueur de Fehling, et qui, au point de vue optique, se comporte comme un mélange à équivalents égaux de glucose ou dextrose, $C^{12}H^{12}O^{12}$, pour lequel $\alpha_j = +57.6$ ou $\alpha_d = +53°,4$, et de lévulose, $C^{12}H^{12}O^{12}$, pour lequel $\alpha_j = -106°$ à 15°, de sorte que le pouvoir rotatoire moléculaire du sucre interverti est gauche et égal à $\alpha_j = -25°$, ce qui est à peu près la moyenne entre les pouvoirs rotatoires inverses du glucose et du lévulose.

L'ensemble de ces résultats démontre bien qu'il y a eu hydratation suivie de dédoublement. Il n'est pas absolument sûr pourtant que le dédoublement soit en parties égales, car M. Maumené a trouvé le pouvoir rotatoire du sucre interverti égal à $-42°$, et M. Von Lippmann à $-44°$, et ces deux chiffres sont très loin de la moyenne $\alpha_j = -25°$ qu'on adopte d'ordinaire. Il est probable que ce phénomène est plus compliqué qu'on ne le suppose d'ordinaire; mais il y a certainement hydratation et dislocation de la molécule de sucre initiale. C'est tout ce que nous avons besoin de savoir pour le moment.

L'action de la sucrase donne le même effet que celle des acides, une hydratation suivie d'un dédoublement, et la ressemblance se continue quand on envisage les faits suivants.

La formation du sucre interverti lévogyre est toujours précédée de la formation d'un sucre absolument inactif sur la lumière polarisée, et différent, en outre, du sucre de cannes par un autre caractère, c'est qu'il réduit la liqueur de Fehling comme la dextrose et la lévulose. Ce sucre réducteur, que l'on rencontre fréquemment dans les sucres bruts et les mélasses, a été étudié par divers chimistes : M. Dubrunfaut, MM. A. Girard et Laborde, M. Muntz, M. Morin, M. Gayon, M. Horsin-Déon. M. Dubrunfaut avait pensé que sa neutralité optique tenait à ce qu'il était formé d'un mélange de dextrose et de lévulose en proportions convenables pour la produire. M. Gayon a montré, dans une expérience que nous retrouverons plus tard, que cette idée était exacte et qu'on pouvait dédoubler le sucre neutre en un sucre lévogyre et un sucre dextrogyre.

Il est probable que ces deux sucres sont en proportions équivalentes, mais le fait n'est pas encore démontré. M. Horsin-Déon, qui avait indiqué, sans la prouver aussi rigoureusement que M. Gayon, la nature double du sucre neutre, avait admis qu'il était fait de lévulose et de dextrose en proportions égales, mais que la dextrose y avait conservé un pouvoir rotatoire plus élevé que celui qu'elle possède d'ordinaire en solution. M. Dubrunfaut a, en effet, signalé chez cette substance une propriété singulière, c'est que le pouvoir rotatoire d'une solution récente est beaucoup plus élevé qu'il ne l'est quelques heures plus tard, et en dissolvant de la dextrose, non dans l'eau, mais dans de l'alcool absolu, M. Horsin-Déon avait vu que le pouvoir rotatoire de cette substance était presque doublé, et devenait égal à celui qu'elle possédait au moment de sa solution dans l'eau, mais sans subir de rétrogradation. Si donc on admet que, dans le sucre neutre, la dextrose conserve aussi sa rotation initiale, double de celle qu'elle possède d'ordinaire, on voit, avec les chiffres donnés plus haut, qu'on doit arriver à peu près à la neutralité optique.

Quoi qu'il en soit. ce sucre se forme comme produit intermédiaire et souvent transitoire dans toutes les circonstances où il se forme du sucre interverti, action des acides, de la chaleur, des ferments du sucre. M. Gayon a rendu très probable l'opinion que sa présence dans les sucres bruts et les mélasses était due à l'existence de ferments au milieu de la masse.

Amylase. — On sait, depuis M. Dubrunfaut, comme nous l'avons vu plus haut, qu'il y a dans l'orge germé, dans le malt, une diastase transformant l'amidon cuit en dextrine, et en un sucre fermentescible, réduisant la liqueur de Fehling. La réaction qui donne naissance à ces deux produits, restée longtemps confuse, a été élucidée par M. O'Sullivan, qui a fait voir que lorsqu'elle était poussée à bout, elle conduisait à une transformation intégrale de l'amidon en un sucre de formule $C^{12}H^{11}O^{11}$, identique au maltose découvert, en 1847, par M. Dubrunfaut, et auquel on a conservé ce nom.

Ce sucre est dextrogyre et a pour pouvoir rotatoire $\alpha_d = +149,5$, d'après O'Sullivan et Schultze, et $+139,3$, d'après M. Soxhlet qui semble avoir préparé un produit plus pur. Ce qui a fait la découverte de O'Sullivan, et ce qui a permis d'expliquer toutes les contradictions dans l'interprétation de la réaction du malt sur l'amidon, c'est que 100 parties de maltose réduisent la même quantité de cuivre, dans la liqueur de Fehling, que 66-67 parties de glucose. La transformation de l'amidon en maltose est donc achevée dans une liqueur où l'on avait le droit de croire, avant M. O'Sullivan, qu'il n'y avait que les deux tiers de l'amidon transformé, en se basant sur le volume de liqueur de Fehling décoloré dans le dosage.

Mais pour arriver à terminer ainsi la réaction sous l'influence de la diastase du malt, il faut exagérer les proportions de malt et l'influence de la température. D'ordinaire, dans les pratiques de l'art de la brasserie, on s'arrange de façon à avoir deux équivalents de maltose et un équivalent de dextrine au moyen de trois équivalents d'amidon, suivant la réaction

$$3\,C^{12}H^{10}O^{10} + 2\,HO = 2\,C^{12}H^{11}O^{11} + C^{12}H^{10}O^{10}$$

Nous retrouvons ici le dédoublement avec hydratation que nous constations plus haut avec la sucrase. Nous y retrouvons aussi le caractère instable, intérimaire, des réactions produites par les diastases, car, ici encore, les acides poussent l'action plus loin que l'amylase et peuvent transformer le maltose en glucose $C^{12}H^{12}O^{12}$, par adjonction d'un nouvel équivalent d'eau.

Émulsine. — Les transformations diverses auxquelles préside l'émulsine sont aussi des dédoublements précédés d'une hydratation. En voici quelques exemples, dans les glucosides simples.

1° Glucoside saligénique ou salicine.

$$\underset{\text{Salicine.}}{C^{26}H^{18}O^{14}} + 2\,HO = \underset{\text{Glucose.}}{C^{12}H^{12}O^{12}} + \underset{\text{Saligénine.}}{C^{14}H^{8}O^{4}}$$

2° Glucoside hydroquinonique ou arbutine.

$$\underset{\text{Arbutine.}}{C^{24}H^{16}O^{14}} + 2\,HO = \underset{\text{Glucose.}}{C^{12}H^{12}O^{12}} + \underset{\text{Hydroquinon.}}{C^{12}H^{6}O}$$

Il en est de même dans les glucosides complexes comme le glucoside benzylalocyanhydrique ou amygdaline.

$$\underset{\text{Amygdaline.}}{C^{40}H^{27}AzO^{22}} + 4HO = \underset{\text{Glucose.}}{2C^{12}H^{12}O^{12}} + \underset{\text{Ac. benzoïque}}{C^{14}H^{6}O^{2}} + \underset{\text{Ac. cyanhydrique.}}{C^{2}HAz}$$

Myrosine. — L'acide myronique, en présence de la myrosine, se dédouble aussi avec hydratation

$$C^{20}H^{18}KAzS^{2}O^{20} + 4HO = C^{12}H^{12}O^{12} + C^{6}H^{4}(C^{2}AzHS^{2}) + S^{2}HKO^{8}$$

en glucose, essence de moutarde et bisulfate de potasse.

Enfin, nous apprendrons à connaître une diastase transformant l'urée par hydratation et dédoublement en deux équivalents de carbonate d'ammoniaque.

$$C^{2}H^{4}Az^{2}O^{2} + 4HO = 2AzH^{4}O, CO^{2}$$

Présure et caséase. — Tous les faits qui précèdent autorisent une induction, c'est que la présure et la caséase n'agissent ainsi, sans doute, sur la caséine qu'en l'hydratant d'abord, en la dédoublant ensuite. Tel est aussi, sans doute, le cas pour les diastases dissolvantes de la fibrine, que sécrètent aussi les cellules digestives ou celles des infiniment petits. Nous ne connaissons pas la constitution intime ni la formule du corps qui sert de point de départ, ni celles de ses produits de transformation, mais il est très probable que l'on retrouve pour eux des faits analogues à ceux que nous venons de constater, et dont quelques-uns se produisent dans des molécules azotées de composition très complexe.

Individualité des diverses diastases. — Nous avons maintenant une question importante à résoudre. Chacune des diastases que nous venons d'énumérer a-t-elle son individualité propre, ou est-elle capable d'exercer à la fois deux ou plusieurs des actions que nous venons d'étudier. C'est une question qui a été laissée de côté dans la plupart des travaux sur la matière, et qui, lorsqu'elle a été traitée, a été résolue dans les sens les plus divers. Il n'en pouvait guère être autrement. Presque toutes les expériences sur ce sujet ont été faites dans des conditions de température et de durée telles, qu'elles ont été fatalement troublées, à l'insu de l'expérimentateur, par l'invasion des infiniment petits, dont les diastases particulières sont venues s'ajouter à celles dont on voulait étudier l'action isolée. De là des contradictions nombreuses chez des investigateurs également soigneux et attentifs. C'est ainsi que, dans la plupart des cas, la pepsine et la présure sont confondues l'une avec l'autre, et que presque toujours l'amylase est considérée comme possédant les propriétés de la sucrase.

J'ai dû m'occuper de cette question, non point pour y dire quelque chose de nouveau, car toutes les opinions ont été émises; mais pour essayer de la résoudre. J'ai dû, d'abord, essayer d'isoler les diverses diastases les unes des autres. Quand on les emprunte à l'organisme des animaux supérieurs, on les recueille en général, comme nous l'avons vu plus haut, dans des conditions telles qu'elles sont des mélanges complexes de celles de l'organisme et de celles

des infiniment petits. Les cellules stomacales, celles de l'intestin, sont comme imprégnées de ce mélange de diastases, dont quelques-unes sont leur œuvre, dont les autres leur viennent de l'extérieur. On a bien plus de chances de les obtenir isolées en s'adressant aux cellules des infiniment petits. Il y a cependant quelques cas ou on peut s'adresser aux diastases digestives des animaux supérieurs.

Une fois le liquide diastasifère obtenu, il faut le faire agir dans des conditions qui ne permettent pas l'immixtion des infiniment petits. Il n'y a pour cela qu'à employer le procédé expérimental qui nous a servi à démontrer que la présure et la caséase n'étaient pas identiques l'une à l'autre.

Cela posé, voici quelques faits qui démontrent que chaque diastase a son individualité propre et n'exerce qu'une seule action.

La sucrase de la levure de bière, qui intervertit si facilement le sucre, est tout à fait sans action sur l'amidon, ne coagule pas le lait, et ne transforme pas la caséine, la fibrine ou l'albumine.

Dans la caillette d'un mouton, nourri de foin et d'herbes fraîches, on trouve, outre la pepsine, une amylase qui saccharifie l'amidon cuit dans un liquide neutre, et est tout à fait sans action sur le sucre candi et le lait.

Le penicillum glaucum cultivé sur un empois de fécule dans une dissolution *de bouillon Liebig*, *l'aspergillus niger* cultivé sur ce que nous apprendrons bientôt à connaître sous le nom de liquide Raulin, sécrètent une substance capable d'intervertir le sucre et de saccharifier l'amidon, et qu'on est obligé, d'après les faits qui précèdent, de considérer comme un mélange de diastases. Mais ce mélange de diastases est tout à fait sans action sur le lait. Il n'y a donc ni présure ni caséase.

En revanche, deux êtres que nous rencontrerons bientôt, comme ferments de la caséine, sous les noms de *tyrothrix geniculatus* et *scaber*, sécrètent en assez grande abondance de la présure et de la caséase, mais sont tout à fait sans action sur le sucre candi et l'amidon cuit.

Rappelons enfin, pour terminer, que nous avons trouvé la présure et la caséase tout à fait distinctes l'une de l'autre, et nous en conclurons que chacune de ces diastases, qui sont au nombre des mieux connues, à son individualité propre et ne saurait être confondue avec ses voisines.

BIBLIOGRAPHIE

Schmulewitsch. — *Uber das Verhalten der Verdauungssäfte zur Rohfaser der Nahrungs mettel.* (De l'action des sucs digestifs sur la cellulose des aliments.) *Bull. de l'Ac. des sciences de Saint-Pétersbourg*, t. XI.

Hooker. — Association britannique, Congrès de Belfast, 1874.

Darwin. — *Les plantes carnivores*, 1876. Trad. Barbier. Reinwald.

Wurtz et Bouchut. — Sur le ferment digestif du Carica Papaya. *Comptes rendus*, t. LXXXIX, p. 426.

Wurtz. — Sur la papaïne. *Comptes rendus*, t. XC, p. 1379, et t. XCI, p. 781, 1880.

— Sur le mode d'action des ferments solubles. *Comptes rendus*, t. XCIII, p. 1104, 1881.

Bouchut. — Sur un ferment digestif contenu dans le suc de figuier, *Comptes rendus*, t. XCI, p. 67, 1880.

DUBRUNFAUT. — Matière azotée du malt, plus active que la diastase. *Comptes rendus*, t. LXI, p. 274.
MUSCULUS. — *Annales de physique et de chimie*, (3), LV, p. 203.
SCHWARZER. — *Bull. de la Soc. chim. de Paris*, XIV, p. 400, et *Journal f. Prakt. chem.*, nouvelle série, t. 1, 1870.
SCHULTZ et MÄRCKER. — *Bull. de la Soc. chim.*, XIX, p. 17.
O'SULLIVAN. — Sur les produits de transformation de l'amidon. *Moniteur scientifique*, 1874.
— De l'action de l'extrait de malt sur l'amidon. *Journal of the chemical society*, août 1876.
SOXHLET. — Action de la liqueur de Fehling sur les divers sucres. *Moniteur scientifique*, 1882.
PIRIA. — *Annales de chimie et de physique*, 3e série, t. XIX, p. 257, et t. XIV, p. 287.
ROCHLEDER et SCHWARZ. — *Ann. der chem. und pharm.*, t. LXXXVII, p. 186.
ZWENGER. — *Ann. der chem. und pharm.*, t. XC, p. 63, et t. CXV, p. 1.
FAURE. — *Journal de pharmacie*, 2e série, t. XVII, p. 299, et XXI, p. 464.
BOUTRON et ROBIQUET. — *Journal de pharmacie*, 2e série, t. XVII, p. 294.
DUCLAUX. — Mémoire sur le lait. *Ann. de l'Institut agronomique*, 1882.

CHAPITRE XI

PRÉPARATION DES DIASTASES

Toutes les diastases que nous venons d'apprendre à connaître ont un caractère commun, c'est qu'elles ne peuvent être obtenues artificiellement, et sont toutes formées sous l'influence de la vie. On peut, il est vrai, à l'aide de réactifs purement chimiques, amener sur les substances sur lesquelles elles agissent des transformations de même ordre que celles qu'elles produisent. On peut, par exemple, à l'aide de l'acide sulfurique étendu, saccharifier l'amidon, intervertir le sucre candi, coaguler le lait. On peut, à l'aide des bases, redissoudre certaines variétés de cellulose ou la caséine coagulée; mais l'identité des résultats ne permet pas d'identifier les actions, qui s'accompagnent, chez les diastases, d'un caractère mystérieux que la science n'est pas encore parvenue à faire disparaître.

Une des principales difficultés provient de ce que les diastases ne sont pas connues à l'état pur, et qu'on ne les obtient qu'à l'état de mélange avec les matériaux azotés divers qui existent dans tout liquide ayant fait partie d'une cellule vivante. Quand on essaie de les purifier, on les voit perdre peu à peu leurs propriétés dans la série des traitements variés auxquels on les soumet.

Aussi ne sait-on pas d'une façon bien précise si les diastases sont des composés ternaires, ou bien si elles renferment de l'azote. A plus forte raison on ne sait pas si, tout en renfermant de l'azote, elles sont d'une structure assez compliquée pour être rapprochées des substances albuminoïdes. Cela est probable pourtant, à raison de quelques réactions communes à ces substances et aux diastases. Ainsi, les diastases sont, en général, précipitées par le sublimé corrosif, l'acétate et le sous-acétate de plomb, l'alcool, le tannin; elles se colorent en jaune par l'iode et l'acide azotique. Encore même l'interprétation de ces réactions est douteuse, car nous allons voir que les diastases sont quelquefois entraînées par un précipité non azoté, formé artificiellement dans le liquide qui les tient en solution, et il se pourrait qu'elles accompagnent de même les matières albuminoïdes qui se précipitent sous l'action des réactifs, sans être des matières albuminoïdes elles-mêmes.

Quoi qu'il en soit, on ne sait les préparer qu'à l'état de mélange plus ou moins complexe. Il existe, pour cela, un grand nombre de procédés qui ont tous

un caractère général, c'est qu'ils peuvent s'appliquer indifféremment à la préparation des diverses diastases, mais qui ont tous été surtout appliqués, ou mieux étudiés dans un certain nombre de cas particuliers. Nous les rencontrerons successivement en étudiant la préparation des diverses diastases.

Présure. — Nous commencerons par la présure qui, à raison de son emploi habituel dans la fabrication des fromages, est la diastase la mieux connue pratiquement.

Nous avons vu qu'il y a identité parfaite entre la présure produite par les microbes et celle que l'on trouve dans l'estomac des jeunes mammifères, et comme cette dernière est à la fois plus abondante et plus facile à se procurer, c'est elle qu'on utilise d'ordinaire. Elle est surtout très développée dans l'estomac du mouton et du veau en lactation, mais on la rencontre aussi chez les autres mammifères, et même chez les oiseaux et les poissons. D'après M. Hansen, les estomacs d'animaux où on n'en trouve pas, lorsqu'on les prend à l'état naturel, en fournissent quand on les a mis à macérer quelque temps avec de l'acide chlorhydrique étendu. C'est ce qui a lieu avec les estomacs de brochet et de saumon.

On emprunte d'ordinaire cette présure à la caillette de veau. Elle y est sécrétée par la muqueuse stomacale. Je me suis assuré qu'elle imprégnait, déjà pendant la vie et surtout après la mort, la tunique musculaire externe, qui peut alors coaguler le lait comme les muqueuses, mais avec moins de rapidité. Elle se répand aussi dans un autre sens, mais cette fois-ci par voie de sécrétion, dans la masse alimentaire, où elle se mélange à celle qu'y produisent les microbes dont le lait a apporté les germes avec lui. Les grumeaux coagulés que renferme l'estomac d'un jeune veau peuvent donc servir, eux aussi, de source de présure; mais il vaut mieux les rejeter, et ne se servir que de la présure contenue dans la muqueuse stomacale.

Cette sécrétion de présure n'est pas exclusivement réservée à l'animal en lactation. Elle persiste tant que l'alimentation reste lactée, même lorsqu'elle l'est seulement en partie. J'ai préparé une présure très active avec la caillette d'un veau de quatre mois, tétant encore, mais très peu et à de longs intervalles, et surtout nourri d'herbe fraîche. La présure persiste dans l'estomac huit à dix mois après la naissance, mais elle cède de plus en plus le pas à la pepsine, qui bientôt existe seule chez l'animal adulte. La caillette du mouton de boucherie, pris à Paris, ne renferme d'ordinaire pas de présure, et on n'en trouve pas davantage dans les autres estomacs du même animal.

On peut donc, si l'on veut, faire servir à la préparation de la présure autre chose que des caillettes de veau très jeune. Mais celles-ci la renferment toujours plus pure, plus débarrassée de pepsine et d'autres diastases, et sont toujours à préférer.

Pour en retirer la présure, on commence par les vider de tous les grumeaux qu'elles renferment, et on les lave à grande eau. On les gonfle ensuite et on les conserve alors pendant quelques semaines. La dessiccation a pour effet de coaguler, ou au moins de rendre insoluble, une matière muqueuse gluante qui rend visqueuses et mousseuses les macérations d'estomac frais, et dont les

proportions sont très réduites avec l'estomac sec. Cette matière gélatineuse existe surtout en abondance dans la région de l'estomac qui avoisine le pylore, où la muqueuse de l'estomac présente un aspect particulier. On sépare cette partie, et le reste, coupé ou non en petits morceaux, constitue la matière première d'où l'on retire les solutions concentrées de présure employées dans la préparation des fromages.

Pour ces présures industrielles, la grande question est d'épuiser le plus possible de leur présure les cellules de la muqueuse stomacale. On y arrive par une macération dans de l'eau ordinaire, mais il faut la faire à 30° ou 35°. A plus basse température, il faut aider à l'action par celle des acides minéraux étendus, ou des dissolutions salines moyennement concentrées. D'après M. Soxhlet, ce sont les dissolutions de 3 à 6 p. 100 de sel marin qui conviennent le mieux pour cela : on prend deux à trois estomacs, pesant environ à l'état sec, lorsque la portion voisine du pylore a été retranchée, de 60 à 80 grammes, et on les met macérer pendant cinq jours, à la température ordinaire, dans un litre d'eau contenant 5 p. 100 de sel marin. Au bout de ce temps, on a une solution pouvant coaguler, en 40 minutes, à 35°, environ 10,000 fois son volume de lait, et l'on peut en doubler et même en tripler la force en y faisant macérer une nouvelle quantité de muqueuse stomacale.

Il arrive fréquemment que pendant sa préparation ce liquide devient un peu putride par suite de l'apparition des ferments. Pour éviter cette fâcheuse intervention, Soxhlet recommande d'ajouter au liquide ci-dessus 4 p. 100 d'acide borique, et d'y introduire l'estomac en petits morceaux de 1 centimètre carré. On agite fréquemment pendant les cinq jours que dure la macération, on ajoute ensuite de nouveau 5 p. 100 de sel marin, et on filtre. On obtient ainsi une très bonne et très active présure commerciale.

C'est de cette dissolution que nous allons maintenant essayer de retirer la présure. Le procédé le plus généralement employé pour cela, et qui peut servir toutes les fois qu'on a à retirer de la présure ou une diastase quelconque d'un mélange qui la renferme, repose sur l'emploi de l'alcool. Mais ce procédé, mal étudié jusqu'ici, s'accompagne de pertes inévitables, et il ne faut en user qu'avec des précautions dont il est important de dire tout de suite un mot, parce qu'elles font seules le succès.

Voici, en effet, ce qui se passe quand on précipite par 10 fois son volume d'alcool une des présures les plus actives et les plus répandues dans le commerce, la présure Hansen.

Un centième environ de la présure initiale reste en solution dans le liquide alcoolique ; c'est une proportion négligeable, et ce n'est pas de cela qu'on doit le plus se préoccuper.

Ce qui est important, c'est de ne laisser que le moins possible le précipité au contact de l'alcool qui a servi à le produire. Il y devient de plus en plus cohérent et insoluble dans l'eau. L'alcool agit-il sur la diastase elle-même, ou sur la matière albuminoïde qui l'accompagne, et dont il fait une gangue protégeant la présure contre l'action de l'eau ? C'est ce qu'il est difficile de dire. Toujours est-il qu'après quarante-huit heures de contact avec l'alcool, on ne retrouve plus dans le précipité que le dixième de son activité initiale.

Il faut donc filtrer aussitôt que possible. Il est bon de précipiter par quinze ou vingt fois le volume d'alcool très concentré. Le précipité s'agglomère mieux ainsi. Quand il est réuni au fond du vase, et sans attendre que le liquide s'éclaircisse, on jette sur un filtre à succion, et on lave une ou deux fois avec de l'alcool. Même en précipitant l'opération le plus possible, on n'évite pas complètement les pertes, qui varient entre la moitié et les deux tiers de la présure initiale.

Le précipité resté sur le filtre doit être comprimé de suite soit entre des doubles de papier Joseph, soit sur le filtre lui-même, s'il n'est pas trop volumineux, puis séché à douce température. C'est à l'état sec qu'il se conserve le mieux. Il semble même y prendre de la stabilité. Si on redissout dans l'eau le précipité obtenu par l'alcool, lorsqu'il est frais et encore un peu humide, le liquide obtenu perd rapidement sa force, surtout lorsque la solution est un peu trop étendue, surtout encore lorsqu'il est exposé à la lumière. Après deux heures d'exposition à un beau soleil de novembre, j'ai vu une présure perdre moitié de sa force coagulante. Le précipité sec supporte mieux l'action du temps et de la lumière et, redissous dans l'eau, il donne une solution plus stable que celle du précipité encore humide, plus stable même qu'une solution de la présure initiale, ramenée au même degré de dilution. Il y a là des phénomènes qu'il serait intéressant d'étudier de près, mais dont l'intérêt est pour le moment pour nous dans la conclusion pratique qu'on en tire.

Cette conclusion est que si l'on travaille à la recherche de la présure et, en général, d'une diastase quelconque, dans un liquide où il y en a très peu, on ne gagne à essayer de la séparer par l'action de l'alcool que si l'opération est conduite rapidement, suivant les indications données plus haut, et si l'on redissout le précipité obtenu dans un volume d'eau beaucoup plus faible que le liquide initial, de façon que, malgré les pertes, il y ait concentration effective de la diastase, et qu'elle puisse ainsi manifester sa présence par sa réaction caractéristique.

Quand on prend comme point de départ la présure Hansen, ou toute autre présure concentrée du commerce, on obtient toujours en dernier résultat, quelles que soient les imperfections du procédé opératoire, un produit actif. Mais ce produit n'est pas pur, et l'alcool ne semble pas pouvoir en fournir un pareil. M. Hammarsten paraît avoir employé avec plus de succès la précipitation fractionnée d'une dissolution concentrée de présure par le carbonate de magnésie ou l'acétate de plomb. Il semble avoir voulu se débarrasser ainsi de la pepsine qui, dit-il, accompagne d'ordinaire la présure, et dont je n'ai, pour ma part, trouvé de traces dans aucune présure commerciale. Quoi qu'il en soit, la présure pure qu'il a obtenue présente les réactions suivantes. Elle ne fournit pas la réaction de l'acide xanthoprotéique. L'alcool, l'acide nitrique, le tannin, le sous-acétate de plomb ne la précipitent pas. L'acétate de plomb la précipite. Elle est soluble dans l'eau, les dissolutions salines, la glycérine. Elle n'est pas diffusible, elle filtre très lentement au travers d'une cloison poreuse d'argile. Ce qui est plus surprenant, c'est que lorsqu'elle est en solution tout à fait neutre, on peut la chauffer jusqu'à 70°, et même jusqu'à l'ébullition, à la condition d'opérer rapidement, sans l'affaiblir. Mais, en solution alcaline, elle est

bientôt détruite par la chaleur, et en solution acide, elle ne résiste pas à la température de 60 à 62°, et perd même tout pouvoir après quelque temps passé de 37° à 40°.

Les dissolutions de présure présentent une particularité curieuse sur laquelle nous reviendrons, c'est qu'elles subissent, après leur préparation, une rétrogradation qui dure environ deux mois, au bout desquels la force reste à peu près constante. Cette rétrogradation est plus prononcée avec les dissolutions concentrées qu'avec les présures faibles. Aussi, quand on prépare les présures industrielles, tâche-t-on d'arriver du premier coup à des liquides coagulant de 15 à 18,000 fois leur poids de lait. D'après les expériences de M. Soxhlet, ces solutions perdent 30 p. 100 de leur force dans les deux premiers mois, dans les premiers jours assez vite, plus tard plus lentement, et deviennent ensuite constantes pendant huit mois. Il faut, sans doute, attribuer ce fait à une oxydation analogue à celle que nous avons constatée plus haut à propos de la préparation de la présure. Le fait, mentionné quelquefois, que la perte est plus prononcée pour les présures concentrées que pour les autres, semble en désaccord avec cette explication; mais je ne le crois pas exact, et j'ai toujours vu une dissolution étendue d'une présure quelconque s'affaiblir plus vite que la solution concentrée.

Caséase. — Ce que nous venons de dire au sujet de la présure nous permet d'être très bref à propos de la caséase. La source où l'on peut le plus aisément emprunter cette diastase est du lait où l'on a fait vivre un des ferments de la caséine, spécialement celui que nous apprendrons à connaître sous le nom de *tyrothrix tenuis*. Ce microbe sécrète bien un peu de présure, mais il donne surtout de la caséase, et du lait où il a vécu, surtout si l'on a laissé vieillir une quinzaine de jours la culture, ne renferme guère que de la caséase qu'on précipitera par l'alcool en suivant les règles données pour la présure. La caséase semble moins oxydable que la présure ou, tout au moins, elle peut exercer son action, lors même qu'elle n'existe qu'en quantités infinitésimales, si on lui donne le temps nécessaire pour cela, tandis que, comme nous le verrons, il y a pour la présure une limite inférieure au-dessous de laquelle elle n'agit plus.

Amylase. — Le meilleur moyen de préparer cette diastase est de traiter une infusion de malt, faite à froid, comme l'a indiqué M. Dubrunfaut en 1864. On ajoute au liquide filtré son volume d'alcool à 90°, et on obtient ainsi un premier précipité très azoté et faiblement actif qu'on sépare par une filtration. On ajoute au liquide limpide un nouveau volume d'alcool à 90°, et on obtient un nouveau précipité floconneux qui, recueilli et isolé, offre le maximum d'énergie de la matière active. Cette matière renferme 8 p. 100 d'azote, et c'est à elle que se rapportent les chiffres donnés, au chapitre précédent, pour les quantités d'empois d'amidon que la diastase peut liquéfier ou saccharifier.

La température à laquelle la dissolution de l'empois est la plus rapide est celle de 70°, celle où la saccharification marche le plus vite est de 50°; à 70°, en dissolution dans l'eau, la diastase s'affaiblit rapidement. Elle s'affaiblit aussi à

froid. Elle est soluble dans l'alcool à 40 ou 50°, mais insoluble dans l'alcool à 62°. L'alcool fort l'altère comme il le fait de la caséase, et les règles que nous avons posées plus haut lui sont aussi applicables.

Cette diastase se rencontre, d'après Dubrunfaut, dans toutes les graines de céréales après la germination. Il dit même en avoir rencontré dans les eaux de la Dhuis, mais il est probable qu'il a été victime d'une cause d'erreur produite par l'ingérence des infiniment petits.

Une dissolution d'amidon dans une eau quelconque se liquéfie spontanément en apparence, et même se saccharifie en partie quand elle reste quelque temps à l'étuve, parce que les germes des ferments de l'amidon sont présents partout. Une dissolution d'amidon, qu'ils ont transformée, peut devenir à son tour une source de diastase, et nous avons vu que celle qu'on trouve dans la salive n'a probablement pas d'autre origine.

Leuchs a le premier démontré l'action saccharifiante de la salive sur l'amidon; M. Miahle, en 1845, a isolé la diastase à l'état impur en précipitant la salive filtrée par cinq ou six fois son poids d'alcool absolu. C'est lui qui lui a donné le nom de *ptyaline*, nom qui ne me paraît pas devoir être conservé, car la salive n'a sous ce point de vue aucune propriété spécifique.

Quoi qu'il en soit, quand on veut rechercher l'amylase dans la salive, on peut l'obtenir à un assez grand état de pureté en suivant un procédé donné par Cohnheim. On produit une salivation abondante en excitant la bouche au moyen de l'éther, on acidifie fortement la salive par l'acide phosphorique, et l'on ajoute ensuite de l'eau de chaux jusqu'à réaction alcaline. Il se forme un précipité de phosphate tribasique de chaux, qui entraîne l'amylase mélangée à des matières albuminoïdes. On lave ce précipité sur filtre avec un volume d'eau à peu près égal à celui de la salive employée. L'amylase se dissout seule, et l'on précipite par l'alcool la solution obtenue. Le précipité obtenu est desséché dans le vide. On le reprend par l'eau, on filtre, et on sépare ainsi une nouvelle quantité de phosphate de chaux. On précipite de nouveau par l'alcool, et on dessèche enfin dans le vide sec.

Il est bien certain, d'après ce que nous avons vu plus haut, que dans ce traitement complexe, une bonne partie de l'amylase doit disparaître. On finit par arriver à une matière solide, blanche ou peu colorée, soluble dans l'eau, l'alcool faible et la glycérine, comme la présure, et ne fournissant pas non plus la réaction de l'acide xanthoprotéique. Elle est pourtant azotée et précipite par l'acétate neutre ou basique de plomb. Elle ne précipite ni par le tannin, ni par le sublimé corrosif, ni par le chlorure de platine.

Cohnheim, qui croyait, d'après les résultats erronés de Payen, que l'amylase du malt avait son maximum d'action de 60 à 65°, avait cru pouvoir en distinguer la ptyaline qui se détruit rapidement à cette température. Mais les expériences de M. Dubrunfaut montrent que l'amylase se comporte de même. Cet argument fait donc défaut. D'ailleurs, ces températures de maximum d'action ou de destruction sont influencées par de faibles différences dans l'acidité ou dans l'alcalinité de la liqueur, dans la nature et la proportion des sels dissous. Nous étudierons bientôt cet ordre de faits avec les détails nécessaires.

Enfin, nous sommes conduits à identifier encore l'amylase du malt ou de la

salive, avec la diastase que M. Cl. Bernard a découverte dans le foie, et qui rend le glycogène soluble. Comme le glycogène et sa diastase sont précipitables tous deux par l'alcool, on ne peut séparer ces deux corps par l'action de ce réactif. Pour isoler la diastase, M. Bernard a employé une méthode, proposée par Von Wittich, et qui, bornée à ses traits essentiels, revient à ceci :

On prend le foie d'un chien en digestion, qu'on a fait, au préalable, jeûner deux ou trois jours, de façon à ce que l'organe ne soit pas trop chargé de glycogène, on le lave à l'aide d'un courant d'eau introduit par la veine-porte, jusqu'à ce qu'il ne reste plus ni sucre, ni glycogène dans le tissu hépatique. On le broie bien dans une machine à hacher la viande crue, puis on délaye la bouillie hépatique dans cinq ou six fois son poids de glycérine pure. Von Wittich recommande de la laisser séjourner au préalable vingt-quatre heures dans l'alcool, ce qui coagule des matières albuminoïdes diverses, et de la dessécher à l'air, ce qui fournit une masse qu'on peut broyer finement et même tamiser. C'est la poudre ainsi obtenue qu'on introduit dans la glycérine.

Après quelques jours de digestion dans ce liquide, la diastase est dissoute. On décante ou l'on filtre. Le liquide obtenu renferme la diastase, qu'on peut y conserver longtemps sans altération, et dont on fait reparaître les propriétés en diluant le tout dans l'eau. Quand on veut isoler la diastase, on précipite la solution glycérinée par l'alcool, on recueille sur un filtre le précipité, qu'on peut redissoudre dans la glycérine, et purifier par une nouvelle précipitation. Le précipité ainsi obtenu a été trouvé par M. Cl. Bernard tout pareil à celui que fournit le traitement de l'orge germé par la glycérine, de sorte qu'il n'y a sans doute qu'une amylase toujours identique à elle-même, dans le monde animal, le monde végétal et celui des infiniment petits.

Sucrase. — Les sources les plus abondantes de la sucrase la plus pure sont les liquides où ont vécu les ferments du sucre, et surtout la levure de bière. Mitscherlich a montré le premier que l'eau de lavage de la levure de bière intervertissait le sucre, et M. Berthelot a isolé le premier de ce liquide, au moyen de l'action de l'alcool, la diastase active, qui porte quelquefois le nom d'*invertine*. Nous verrons que ce nom est mal choisi, cette diastase n'amenant pas toujours l'inversion du sucre. Nous ne pourrons, du reste, que répéter à son sujet ce qui a été dit à propos de l'amylase. Tous les procédés indiqués jusqu'ici peuvent servir à sa préparation.

Pepsine. — La diastase active du suc gastrique a été, pour la première fois, isolée par Wasmann à l'aide de l'acétate de plomb, puis par Payen au moyen de l'alcool. Depuis, on a proposé divers procédés pour l'extraire dans un état de pureté plus ou moins grand.

Schmidt sature le suc gastrique par l'eau de chaux, filtre, évapore à consistance de sirop, dans le vide, le liquide filtré et précipite alors par l'alcool fort. Il redissout le précipité dans l'eau, et le précipite à nouveau par le sublimé corrosif. Les flocons obtenus, remis en suspension dans de nouvelle eau, sont traités par l'hydrogène sulfuré ; on filtre après décomposition totale, et on ajoute de nouveau de l'alcool pour précipiter la pepsine. Après une longue série d'opé-

rations et de précipitations qui ont dû l'affaiblir, celle-ci n'est pas encore pure. Pour l'obtenir dans un plus grand état de pureté, Brucke propose le procédé suivant :

On racle une portion de muqueuse stomacale à l'aide d'une lame mousse, et on la traite par de l'eau acidulée avec $\frac{1}{20}$ d'acide phosphorique. On laisse digérer quelques heures à 35°. La muqueuse se dissout presque entièrement, et ses diastases passent en solution dans le liquide. On filtre ou l'on décante, et on ajoute de l'eau de chaux de façon à ce que le liquide reste très peu acide. Le précipité de phosphate de chaux formé entraîne la pepsine. On filtre, on redissout le précipité dans une faible quantité d'acide chlorhydrique dilué, et on agite la liqueur avec une solution de 1 partie de cholestérine dans 4 parties d'alcool et 1 d'éther. La cholestérine qui se précipite entraîne à nouveau la pepsine. On lave ce dépôt sur filtre avec de l'eau aiguisée d'acide acétique, puis avec de l'eau pure, tant que le liquide qui s'écoule précipite par les sels d'argent. On dissout ensuite le cholestérine par de l'éther aqueux; il se forme deux couches, dont la couche inférieure, aqueuse, renferme la pepsine; on la filtre, et on l'évapore à basse température.

On obtient ainsi une substance azotée, blanche ou grisâtre, qui jouit des propriétés du suc gastrique, et dissout, en présence des acides, la fibrine et l'albumine. Mais ce procédé doit la fournir très affaiblie. Quoi qu'il en soit, la pepsine de Brucke précipite par le bichlorure de platine, l'acétate et le sous-acétate de plomb. Elle n'est précipitée ni par le bichlorure de mercure, ni par le tannin, ni par l'iode. Elle ne coagule pas le lait et ne contient, par suite, pas de présure, tandis que celle de Schmidt conserve cette propriété qui témoigne d'un mélange.

Procédé de M. A. Petit. — D'après M. Petit, le procédé de Brucke s'accompagne de la destruction d'une grande partie de la pepsine, et ne donne en dernière analyse qu'un produit très peu actif. M. A. Petit obtient non une pepsine pure, mais une pepsine commerciale très active, pouvant liquéfier plusieurs milliers de fois son poids de fibrine du sang, au moyen d'estomacs de porc, de caillettes de veau et de mouton, qu'on lave à grande eau, et dont on sépare la muqueuse par raclage au moyen d'un couteau à lame arrondie. On hache cette muqueuse et on la met macérer dans quatre fois son volume d'eau distillée, à laquelle on ajoute 5 p. 100 d'alcool. On agite fréquemment, on filtre après quatre heures de macération, et on évapore dans des vases à grande surface, à une température inférieure à 40°. M. Petit trouve que la pepsine est aussi soluble dans l'eau alcoolisée à 5 p. 100 que dans l'eau acidulée ou dans la glycérine, et il est d'accord avec M. Duclaux sur ce fait, que la précipitation par l'alcool entraîne une perte du produit.

Papaïne. — MM. Wurtz et Bouchut ont appelé de ce nom le ferment actif du suc de *carica papaya.* Ce suc, laiteux, subit après son écoulement par incision du tronc ou des fruits verts, une sorte de coagulation qui le sépare en un liquide aqueux et une pulpe blanche. dont le volume peut égaler ou même dépasser celui de la partie aqueuse. Le liquide, précipité par l'alcool, fournit

la papaïne; la pulpe, abandonnée à une longue digestion dans l'eau, donne un liquide nouveau d'où l'alcool précipite encore de nouvelle diastase.

Le précipité est sans doute, pour le suc de carica papaya, comme partout ailleurs, un mélange variable de substances diverses, parmi lesquelles il y a des matières albuminoïdes plus ou moins transformées par la matière active du suc, et donnant les réactions des peptones. Comme ces substances sont toutes précipitées par le sous-acétate de plomb, M. Wurtz a essayé l'action de ce réactif comme moyen de purification, et a retiré de la portion filtrée une matière active jouissant des propriétés suivantes. Elle est soluble dans l'eau à la façon de la gomme, et sa solution se trouble à l'ébullition, sans se coaguler à la façon de l'albumine. Elle précipite d'abord par l'acide chlorhydrique et l'acide azotique, pour se redissoudre ensuite dans un excès. Elle ne précipite pas par les acides phosphorique ordinaire et acétique. L'acide métaphosphorique, le prussiate de potasse acidulé par l'acide acétique la troublent; le sublimé corrosif la trouble lentement à froid, et donne des flocons à l'ébullition. Le sulfate de cuivre, le bichlorure de platine, l'acide picrique, le réactif de Millon donnent des précipités abondants. Enfin elle est fortement azotée. Ce sont, comme on voit, les réactions des matières albuminoïdes, mais avec quelques différences importantes, telles que celles que présente l'action du sublimé corrosif et du sous-acétate de plomb.

Diastases du Pancréas. — Jusqu'ici, surtout quand nous avons recherché les diastases de l'organisme, nous avions au point de départ des mélanges assez complexes, où pourtant dominait une diastase déterminée, que les procédés de préparation isolaient de leur mieux. En arrivant au pancréas, nous avons affaire à un organe chargé au moins de dissoudre les aliments féculents et azotés, et devant posséder, de ce chef, au moins deux diastases différentes. Si l'on y ajoute la diastase, hypothétique, comme nous allons le voir, qui émulsionne les aliments gras, on voit que la constitution du suc pancréatique doit être assez compliquée.

En traitant par cinq à six fois son volume d'alcool une infusion de pancréas, Bouchardat et Sandras en avaient retiré, en 1845, une substance capable de saccharifier l'amidon, et qu'on a longtemps considérée, sous le nom de *pancréatine*, comme le principe actif du pancréas.

Huefner, en appliquant au pancréas le procédé de Von Wittich, en a retiré une diastase amorphe, blanche, pulvérulente, contenant du soufre, de l'azote, du chlorure de sodium et du phosphate de magnésie. Ce corps transformait à la température ordinaire l'amidon en empois, attaquait et digérait la fibrine, bouillie ou non, à 30°, et acidifiait l'huile d'olives neutre étendue d'eau. Cette substance est soluble dans l'eau, et sa solution se coagule par la chaleur, comme celle de l'albumine. Elle précipite par l'acétate de plomb, le nitrate mercurique, le bichlorure de mercure, l'azotate d'argent, le ferrocyanure de potassium additionné d'acide acétique, l'iodomercurate de potassium, le tannin. Elle se colore en jaune par l'acide azotique concentré, et devient orange quand on ajoute de l'ammoniaque. Après ébullition avec de la soude, le liquide devient

violet quand on ajoute du sulfate de cuivre, et donne, avec le réactif de Millon, la coloration caractéristique de la tyrosine.

Toutes ces réactions sont très mélangées, et la pancréatine d'Huefner est très probablement encore un produit complexe. D'ailleurs, le pancréas, si ce que nous avons dit plus haut sur l'individualité des diverses diastases est exact, doit en contenir plusieurs qui sont confondues dans la pancréatine. C'est, en effet, ce que semblent prouver les expériences de Danilewski, où nous allons trouver en œuvre le seul procédé de préparation des diverses diastases que nous n'ayons pas encore rencontré.

On prend le pancréas d'un chien tué cinq ou six heures après un repas copieux. On injecte d'eau l'organe pour le débarrasser du sang. On le triture avec du sable, on le délaye dans l'eau, et on le laisse deux heures, en macération à 30°. On filtre, et on ajoute, à la liqueur, de la magnésie calcinée qui sépare de la masse la diastase émulsive des corps gras. On filtre de nouveau, on additionne de collodion le liquide filtré, et on agite de façon à obtenir un précipité de fulmicoton bien divisé. On laisse alors évaporer l'éther à une douce chaleur, et le précipité, qui doit être granuleux si l'on a bien opéré, est séparé par filtration. On le redissout dans l'alcool éthéré, et on agite. Il se forme, comme dans le procédé de Brucke, une couche aqueuse qui contient une diastase capable de dissoudre la fibrine, surtout en solution faiblement alcaline. Cette diastase ne semble pas être de nature albuminoïde.

Le liquide qu'on a séparé par filtration du précipité de collodion granuleux est rapidement évaporé au sixième dans le vide et additionné d'alcool concentré. Le précipité qui se forme est alors traité par un peu d'alcool à 40°, qui laisse l'albumine, et dissout la diastase avec des sels minéraux et un peu de leucine et de tyrosine. On soumet la liqueur à la dialyse, et on précipite de nouveau par l'alcool pur. On obtient ainsi une diastase qui n'est pas de nature albuminoïde et qui transforme rapidement l'amidon en sucre. C'est l'amylase.

Cette expérience peut avoir de l'intérêt pour montrer qu'il y a dans le pancréas des diastases diverses, et non une seule diastase pouvant agir sur des matériaux différents, mais elle semble insuffisante pour donner un moyen de séparer et d'isoler ces diverses diastases. Il vaudra mieux recourir à des liquides où elles soient isolées et à peu près pures : à l'extrait de malt pour l'amylase, à l'extrait de levure de bière pour la sucrase.

Il est vrai que nous ne connaissons pas d'autre source que le pancréas pour le ferment émulsif et saponifiant des corps gras. Mais il est probable que ce ferment n'existe pas. Toutes les propriétés, très réelles, que Cl. Bernard a trouvées au suc pancréatique, à ce point de vue, s'expliquent très bien sans recourir à l'hypothèse d'un ferment émulsif, et en tenant compte seulement de la composition chimique de ce suc.

Son caractère essentiel est d'être assez fortement alcalin, absolument comme le suc gastrique est acide. On ne peut même, à ce sujet, éviter de songer que le sel marin de l'alimentation est sans doute la source qui fournit au suc gastrique l'acide chlorhydrique qu'il contient, et au suc pancréatique la soude qui le rend alcalin. Quoi qu'il en soit, de l'eau pure qu'on rend alcaline au même degré que le suc pancréatique émulsionne très bien de l'huile. Il se forme au contact de la

soude et du corps gras, une sorte de savon qui diminue beaucoup ce que j'ai appelé la tension superficielle de l'eau, dans un travail inséré aux *Annales de chimie et de physique*, et où j'ai démontré qu'une émulsion est d'autant plus facile à produire, et d'autant plus stable, que les tensions superficielles du liquide émulsionnant et du liquide émulsionné sont plus voisines.

Mais ce n'est pas tout que l'émulsion soit faite, il faut qu'elle soit stable, c'est-à-dire que les globules divisés de la matière grasse ne tendent pas à se réunir de nouveau, de façon à former une masse unique. L'égalité des tensions superficielles est un premier obstacle à cette réunion, mais il y en a d'autres. Les globules gras, dont la densité est en général inférieure à celle du liquide émulsif, tendent à se rapprocher en se réunissant à la surface, et remonteront, toutes choses égales d'ailleurs, d'autant plus lentement qu'ils sont plus fins. Or, ils le sont extrêmement avec de l'eau un peu alcaline. Voilà une seconde cause de stabilité de l'émulsion. Il y en a une troisième, c'est que le suc pancréatique est en outre visqueux et même gommeux, à raison de l'albumine et des matières qu'il tient en solution. Les globules gras doivent donc y cheminer péniblement. Il y en a enfin une dernière, c'est qu'il est mousseux, que par conséquent les lamelles qu'il forme peuvent résister à la pression sans se briser. Dès lors, pour que les gouttelettes qu'il contient se réunissent en une masse unique, il ne suffira pas qu'elles se rapprochent beaucoup, il faudra encore qu'elles brisent la pellicule résistante du liquide émulsif qui les entoure. La faculté d'émulsionner que possède le suc pancréatique est donc une résultante complexe, et il n'y a aucune raison de l'attribuer à une diastase, puisqu'on peut préparer artificiellement un liquide organique jouissant des mêmes propriétés.

Si l'on pouvait chauffer le liquide pancréatique sans qu'il se coagule, on trouverait sans doute que sa faculté émulsive, comme celle des liquides gélatineux que j'ai préparés, résiste à l'ébullition. Cl. Bernard repousse, il est vrai, l'idée que l'alcalinité du suc joue un rôle, car il a vu le suc pancréatique rester émulsif après avoir été neutralisé J'ai trouvé qu'il l'était beaucoup moins, mais qu'il l'est en effet encore. Cela se comprend sans peine dans notre explication. On n'a, en effet, détruit qu'une seule des causes de la stabilité de l'émulsion, sans atteindre les autres. Enfin, il reste à expliquer la saponification et l'acidification que subissent les émulsions de graisse et de suc pancréatique, et dont M. Berthelot a constaté la parfaite réalité. Mais ce phénomène ne se manifeste qu'au bout de plusieurs heures, n'est bien marqué que lorsqu'on emploie une dose énorme de suc (15 à 20 grammes dans les expériences de M. Berthelot, pour quelques décigrammes de matière grasse), et le suc pancréatique, déjà peuplé de microbes lorsqu'il s'écoule de la fistule, ne saurait séjourner quelques heures à l'air sans devenir le siège d'une fermentation qui y forme des produits acides et odorants parmi lesquels l'acide butyrique dont M. Berthelot a constaté la présence.

Il n'y a, en résumé, aucune raison actuelle de croire à l'existence de la diastase émulsive, tous les phénomènes auxquels elle est censée présider s'expliquant bien sans elle.

Les autres diastases que celles que nous venons de passer en revue ne nous présenteraient rien de nouveau quant à leur préparation. Nous ne pousserons donc pas plus loin cette étude. Il nous reste à indiquer ce qu'ont appris les

études faites sur la composition chimique des diverses diastases, dans le plus grand état de pureté où elles aient été obtenues.

Composition chimique des diastases. — Huefner, après avoir préparé par le procédé de Von Wittich du ferment salivaire et du ferment pancréatique, les a analysés et a obtenu les résultats suivants :

	Diastase salivaire.		Diastase pancréatique.	
Carbone	43,1	45,95	43,6	46,57
Hydrogène	7,73	8,23	6,50	7,17
Azote	11,86	12,65	13,8	14,95
Oxygène	»	»	»	30,36
Soufre	»	»	0,88	0,95
Cendres	6,1	»	7,04	»

Les nombres de la seconde colonne, pour chacune des diastases, sont ceux qu'on obtient quand on déduit les cendres.

Buckland-Bull a, de son côté, trouvé pour l'émulsine les chiffres suivants :

Carbone	43,06
Hydrogène	7,20
Azote	11,52
Soufre	1,25

En comparant les résultats de toutes ces analyses avec ceux qu'on obtient quand on étudie les matières albuminoïdes, on trouve que ces diastases renferment beaucoup moins de carbone et beaucoup plus d'oxygène que les matériaux constitutifs des organismes vivants; on a donc le droit de les considérer comme des matières albuminoïdes oxydées, ce qui explique à la fois qu'elles ne jouissent plus des propriétés des matières albuminoïdes, et qu'elles renferment pourtant encore de l'azote. C'est une conclusion qu'on peut mettre en regard de cet autre fait, qu'elles apparaissent surtout, dans les tissus des plantes qui n'en possèdent pas d'une façon continue, lorsque, dans ces tissus, la respiration oxydante devient plus active. La betterave, la canne à sucre, les graines de céréales produisent leurs diastases au moment de la floraison ou de la germination, au moment où l'absorption d'oxygène et la consommation des matières alimentaires deviennent prédominantes, et font ressembler la vie végétale à celle des animaux. Nous pourrons mettre bientôt ce même fait en relation avec cet autre, que, dans la destruction par les infiniment petits des matières albuminoïdes elles-mêmes, les êtres les plus actifs producteurs de diastases sont les êtres aérobies.

Toutefois, à côté de ces conclusions, il faut mettre les conclusions un peu différentes auxquelles a été conduit M. Wurtz en étudiant la composition de sa papaïne purifiée par le sous-acétate de plomb, pour laquelle il a trouvé les chiffres suivants, déduction faite des cendres :

	I	II	III
Carbone	52,36	52,19	52,9
Hydrogène	7,37	7,12	»
Azote	16,94	16,40	16,44
Cendres	2,60	4,22	3,40

C'est une composition très voisine de celle des matières albuminoïdes. Nous avons vu pourtant que la papaïne s'en distingue par ses réactions. Peut-être d'ailleurs, dans ce qui a été analysé comme papaïne, la matière active n'entrait-elle qu'en faible proportion, perdue dans une masse de matière qui, provenant toujours de la même origine, et traitée toujours à peu près de la même façon, pouvait avoir toujours la même composition. Nous allons voir, en effet, dans le chapitre suivant, combien il faut peu de ces diastases pour produire des effets très sensibles.

BIBLIOGRAPHIE

Chr. Hansen. — *Milchzeitung*, 1874, n° 86.

Hammarsten. — *Milchzeitung*, 1874, n° 89, et 1875, n° 133.

Soxhlet. — *Milchzeitung*, 1877, n°s 37 et 38.

B. Martiny. — *Die Milch* (le lait), Dantzig, 1871.

W. Fleischmann. — *Das Molkereiwesen*. La laiterie. Brunschweig, 1878. Wieweg et fils.

Duclaux. — Mémoire sur le lait. *Ann. de l'Institut agronomique*, 1882.

Miahle. — *Comptes rendus*, 31 mars 1845.

Hufner. — Recherches sur les ferments non organisés. *J. f. Prakt. Chemie*, 1872, et *Bulletin de la Soc. chim.*, t. XIX, p. 227.

Von Wittich. — *Archiv der gesammten Physiologie*, t. III, p. 339.

Brucke. — Recherches sur les peptones. *Zeitschrift für chemie*, t. X, 1871.

— Préparation de la dextrine et du glycogène des tissus animaux, t. X, 1871.

Gorup-Besanez. — Ferment peptogène dans la graine de vesce. *Bull. de la Soc. chimique*, 1871.

Paschutin. — Séparation des ferments de la digestion. *Zeitschrift für chemie*, t. XI.

Dobereiner. — *Journal de chimie*, de Schweigger, t. XII, p. 129, et *Journal de pharmacie*, t. I.

Mitscherlich. — *Comptes rendus mensuels de l'Ac. de Berlin* et *Rapports annuels de Berzélius*. Paris, 1843.

Berthelot. — *Comptes rendus*, 1860, et *Chimie organique fondée sur la synthèse*, t. II, p. 619.

A. Petit. — *Recherches sur la pepsine*. Paris, 1881.

E. Scheffer. — De la pepsine, nouvelle méthode pour la préparer. *Americ. journal of pharmacy*, 1872.

Wurtz. — Sur la papaïne. *Comptes rendus*, t. XC, p. 1379.

Danilewski. — *Wirchow's Archiven*, t. XXV, p. 279.

Duclaux. — Sur la tension superficielle des liquides. *Ann. de ch. et de phys.*, t. XXI, p. 383, 1871.

Dobell. — Action du pancréas sur les graisses et l'amidon. *Proceed. of Royal Society*, t. XVI, p. 200.

Cl. Bernard. — Leçons sur la digestion.

CHAPITRE XII

CONDITIONS PHYSIQUES DE L'ACTION DES DIASTASES

État physique des diastases. — La première question que nous ayons à nous poser est celle de l'état physique sous lequel peuvent se présenter ou agir les diastases. Tout ce que nous savons sur elles et tout ce que nous apprendrons indique qu'elles peuvent prendre l'état liquide. J'ai vu, du reste, pour la présure, et M. A. Gautier a trouvé pour la pepsine, que la diastase restait active après filtration au travers d'un diaphragme de porcelaine dégourdie, qui ne laisse passer aucun élément figuré, si minime qu'il soit. Mais, d'un autre côté, les procédés de préparation que nous avons mis en œuvre au chapitre précédent témoignent que les diastases s'attachent avec une grande facilité aux matériaux solides qu'on précipite dans les liqueurs qui en contiennent. Ces précipités complexes peuvent alors céder les diastases à des liquides nouveaux et servir comme sources de ces précieuses substances.

Dans l'organisme, on rencontre en effet les diastases sous la forme de matériaux en dissolution et sous forme solide. C'est M. Béchamp qui a le premier montré, pour le pancréas d'abord, puor l'estomac ensuite, que l'on pouvait trouver dans ces organes, et isoler par des procédés convenables, des granulations très ténues capables de manifester à un haut degré les propriétés des glandes auxquelles on les emprunte. Les formes qu'il leur attribue n'ont rien de caractéristique, ce sont celles de tous les éléments granuliformes contenus à l'intérieur des cellules vivantes. M. Béchamp les considère comme vivantes, et comme produisant par sécrétion leur diastase caractéristique; mais il n'a donné aucune preuve sérieuse en faveur de cette opinion. En les baptisant même du nom de *microzyma*, qui lui avait déjà servi à tant d'usages, il a introduit lui-même la confusion dans son sujet, et masqué sa découverte. Mais ces granulations sont chargées de diastases. C'est ce qu'a démontré M. Gautier en lavant journalièrement, au travers d'un diaphragme de terre de pipe, des granulations insolubles provenant d'une dissolution de pepsine. La vingtième eau de lavage avait encore une activité sensible.

Sont-ce quelques-unes de ces granulations qui se dissolvent, et qui représenteraient alors une modification insoluble de la pepsine, ou bien cèdent-elles seulement à l'eau de lavage la diastase dont elles sc seraient antérieurement impré-

gnées? On ne le sait, et la question est certainement difficile à résoudre ; mais la seconde explication est évidemment plus conforme, non seulement à l'ensemble des faits que nous connaissons sur les diastases, mais à une foule d'autres phénomènes connus. Tels sont ceux de la teinture, où nous voyons aussi une matière colorante soluble se fixer sur certaines matières solides, d'où elle ne peut être retirée que peu à peu, par des liquides de composition différente de ceux où elle a été absorbée. De même aussi, cette matière colorante se fixe sur certaines matières, de préférence, ou à l'exclusion de certaines autres. Les granulations insolubles des liquides diastasiques seront, si l'on veut, les plus chargées de *mordant* pour les diastases, mais rien encore n'autorise à croire qu'elles soient les diastases elles-mêmes.

Les résultats qu'il nous reste à indiquer sont d'accord avec cette explication. M. Wurtz a vu de la fibrine divisée finement, immergée 10 minutes dans une solution de papaïne, soumise ensuite à des lavages longuement prolongés, avec expression du liquide à plusieurs reprises, se digérer elle-même à 40° avec de *l'eau pure* où elle avait nécessairement apporté, et où l'on retrouvait du reste dissoute, de la papaïne provenant de son premier bain dans une solution de cette substance. Il a ensuite observé un fait analogue pour la pepsine. Il ne semble donc pas douteux que ces diastases ne puissent se fixer à l'état insoluble sur certains corps. C'est un fait que nous avons déjà pu observer dans l'étude des procédés de préparation des diastases ; mais il est intéressant, au point de vue théorique et pratique, de voir les diastases se fixer ainsi sur la matière qu'elles sont chargées de transformer.

Il y a dans ces phénomènes une particularité qui apparaît déjà, c'est l'extrême petitesse des proportions sous lesquelles une diastase peut agir. Ce qui se fixe sur la fibrine, dans l'expérience de M. Wurtz, est évidemment très peu de chose. Nous allons nous faire une idée plus nette de cette disproportion, en étudiant l'intervention de la quantité de diastase agissante, du temps et de la température dans cet ordre de phénomènes.

I. — PRÉSURE

Pour étudier ces diverses influences, nous nous adresserons d'abord à la diastase la mieux connue, à cause de son emploi industriel, à la présure. La pratique a, depuis longtemps, recueilli à son sujet des notions que je n'ai eu qu'à préciser et à compléter pour leur donner l'allure scientifique. Ce sont ces notions que nous allons tout d'abord résumer.

Influence de la quantité. — On sait depuis longtemps que du lait se coagule d'autant plus vite à une température déterminée qu'on y a ajouté plus de présure, et l'expérience a appris depuis, aux chimistes qui se sont occupés de ce sujet, que, lorsqu'on maintient bien constante la température, les temps de coagulation sont en raison inverse des quantités de présure employées. Cette loi est très facile à vérifier quand on emploie une présure concentrée du com-

merce, dont un litre peut coaguler, comme nous l'avons vu, de 8 à 10 000 litres de lait, et dont on peut faire varier, par suite, les proportions ajoutées, sans faire varier sensiblement le volume de lait où on les ajoute. La présure connue sous le nom de présure Hansen convient parfaitement pour cet objet.

Cette loi n'est vraie, cependant, que lorsqu'on ne s'écarte pas beaucoup des doses de présure habituelles, et, par suite, des temps de coagulation usités dans la pratique industrielle, qui varient ordinairement entre une demi-heure et une heure. Lorsque la quantité de présure ajoutée devient trop faible, la durée de l'action augmente indéfiniment. D'autre part, même en augmentant beaucoup le volume de présure, on ne peut réduire au-dessous d'une certaine limite la durée de la coagulation, qui ne devient jamais instantanée, sans doute parce qu'elle correspond, non pas à la formation d'un véritable précipité chimique, mais à un travail moléculaire qui demande toujours un certain temps pour s'accomplir.

Voici, pour préciser les idées, les résultats d'une expérience dans laquelle on a beaucoup fait varier le rapport $\frac{V}{v}$ du volume du lait au volume de la présure. La seconde colonne donne, en minutes, les temps de coagulation. La troisième donne le rapport des nombres des deux premières, rapport qui devrait être constant, si la loi visée ci-dessus se vérifiait dans tous les cas. La présure est de la présure Hansen, la température était de 36°,5.

$\frac{V}{v}$	t	
24 000	240′ 00″	100
12 000	44 00	275
8 000	30 00	266
6 000	21 30	270
4 000	15 00	266
3 000	11 00	275
2 400	9 00	266
2 000	7 30	266
1 500	6 20	240
500	4 20	120
250	3 30	80
125	3 20	40

On voit que la loi se vérifie assez bien pour des volumes de lait compris entre 2 000 et 12 000 fois le volume de présure, mais qu'en dehors de ces limites elle cesse d'être exacte. Cela tient à des causes dont nous devons dire un mot.

Quand on exagère la dose de présure, le coagulum ne se fait jamais bien, et n'est plus consistant. On a pris, pour terme de l'opération dans l'expérience qui précède, le moment où l'on pouvait renverser le lait, caillé dans un tube d'environ 2 centimètres de diamètre, sans qu'il s'en écoule une goutte. Ce critérium manque quand il y a excès de présure. Le caillot reste mou, et ne se colle pas aux parois. L'augmentation de volume produite par l'addition de la présure est trop faible pour intervenir en quoi que ce soit dans ce phénomène. Il se passe une action spéciale sur laquelle nous reviendrons.

Quand on met, au contraire, trop peu de présure, la coagulation devient interminable, et lorsqu'elle survient enfin, il y a toujours à se demander si c'est du fait de la présure ajoutée, ou de celui des êtres vivants qui y prennent immanquablement naissance pendant le temps de l'opération.

Pour pousser l'expérience au delà des limites du tableau ci-dessus, il faut de toute nécessité opérer dans un vase à filtre poreux, comme celui de la p. 129, où l'on amène de la présure, par filtration, dans du lait stérilisé d'avance. Il faut seulement, dans cette expérience, tenir compte de ce fait, remarqué par Quevenne, que du lait qui a été chauffé est beaucoup moins sensible à l'action de la présure que lorsqu'il est à l'état naturel. Mais les différences ne sont pas grandes.

En faisant ainsi l'expérience, on trouve que, lorsqu'on n'ajoute que des doses infinitésimales de présure, la coagulation ne se fait plus, même au bout de quelques jours. Nous tirons de ce fait la conclusion, qui nous sera utile bientôt, qu'il peut y avoir de la présure dans du lait, et, en général, une diastase dans un liquide où cette diastase peut agir, sans qu'elle y manifeste sa présence par son action ordinaire, et, par conséquent, sans qu'on puisse l'y découvrir.

Mais il faut pour cela que la dose de la présure soit très faible, inférieure à $\frac{1}{100\,000}$ pour la présure Hansen, par exemple, dont nous nous sommes servis plus haut. Au-dessus de cette limite, la coagulation est très lente, n'est complète quelquefois qu'au bout de plusieurs jours, mais finit par se faire. Ceci témoigne que le temps est un élément important de l'action des diastases, et qu'il faut toujours le faire entrer comme élément d'appréciation dans la recherche de ces substances si singulières, et dans l'évaluation de la puissance qu'on leur attribue.

On dit quelquefois, et nous avons nous-même dit plus haut que les fortes présures commerciales peuvent coaguler de 10 à 20 000 fois leur poids de lait. Ces chiffres ont une valeur pratique incontestable, mais n'ont qu'une signification théorique très imparfaite, puisque nous voyons une présure, coagulant 12 000 fois son volume de lait en trois quarts d'heure, pouvoir coaguler 100 000 fois son poids de lait, lorsqu'on lui donne le temps qu'il faut pour cela.

Nous aurons à nous rappeler ces faits quand nous aurons à nous préoccuper de la recherche de la présure dans les liquides qui en renferment. Nous ne voulons, pour le moment, qu'attirer l'attention sur la disproportion vraiment prodigieuse entre l'effet apparent produit et le poids de l'élément actif. Une présure concentrée, préparée par Soxhlet et qui coagulait 50 000 fois son poids de lait, à 35°, en quarante minutes, ne contenait pas plus de 8,1 p. 100 de matière organique en solution. Celle-ci agissait donc sur 600 000 fois son poids de lait; elle n'était certainement pas formée de diastase pure, et n'en contenait peut-être pas la moitié de son poids. Il faudrait donc évaluer à plus du double l'activité spécifique la diastase pure, et quintupler, au moins, le chiffre obtenu pour arriver au volume de lait qu'aurait pu coaguler un volume de cette présure, si on lui avait donné le temps nécessaire. On dépasse ainsi le chiffre de cinq millions. En basant ces calculs, non plus sur le poids du lait, mais sur celui de la ca-

séine, on trouve que la diastase présure peut coaguler 250 000 fois son poids de caséine. Ce sont les chiffres les plus élevés qu'on ait encore rencontrés dans l'évaluation de la puissance des diastases.

Influence de la température. — Tout ce qui précède n'est vrai que pour des températures voisines de celles où se font les coagulations industrielles, et qui sont d'ordinaire comprises entre 30° et 37°. Quand on s'éloigne de ces limites, on rencontre des faits nouveaux que nous allons indiquer avec soin, parce que, bien étudiés pour la présure, ils sont vrais pour diverses diastases.

On sait, en effet, depuis longtemps, que ces substances n'agissent pas ou n'agissent que faiblement aux températures ordinaires. On sait aussi que leur activité, à toutes, s'éteint lorsqu'elles ont été portées à la température de 100°; entre ces deux extrêmes, chacune a une température où elle exerce son maximum d'action.

Ce maximum, pour la présure, est voisin de 40°, d'après les expériences de M. Martiny; il est à 41°,25 d'après MM. Segelcke et Storch. M. Fleischmann, qui a étudié soigneusement les temps de coagulation du lait additionné de $\frac{1}{1000}$ de présure à diverses températures, en donne le tableau suivant :

Températures	Durée de coagulation.	Nombres proportionnels.	Observations.
	min.		
15°	»	»	Aucune coagulation nette.
20	32,17	18	Coagulum très mou.
25	14,00	44	Coagulum à peu près bon.
30	8,47	71	Coagulum bon. Sérum limpide.
31	8,15	74	Températures habituelles de coagulation dans les laiteries.
32	7,79	77	
33	7,47	80	
34	7,19	83	
35	6,95	86	
36	6,74	89	
37	6,55	92	» »
38	6,39	94	» »
39	6,26	96	» »
40	6,15	98	» »
41	6,06	100	Température du maximum d'action.
42	6,12	98	» »
43	6,24	96	» »
44	6,44	93	» »
45	6,74	89	» »
46	7,16	84	» »
47	7,72	78	Sérum trouble.
48	8,44	70	*Id.*
49	10,00	60	Sérum trouble, coagulum floconneux.
50	12,00	50	Masse gélatineuse.

Ces résultats divers sont traduits dans la courbe ci-jointe (fig. 34), où le maximum d'action, avec décroissance plus rapide d'un côté que de l'autre, apparaît très nettement.

Pour en compléter les indications, nous avons à examiner ce qui se passe au delà des températures qui y sont portées.

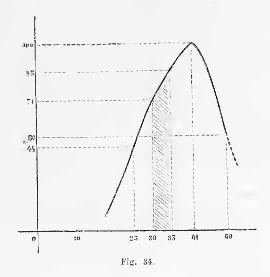


Fig. 34.

Entre 50° et 60°, il y a encore coagulation, mais elle est de plus en plus imparfaite. Le liquide finit par n'être plus que visqueux, et, au delà de 60°, toute action de la présure disparaît, pour ne plus reparaître, même lorsqu'on laisse refroidir le liquide. La présure a été détruite par l'élévation de température.

Au-dessous de 20°, nous voyons que la présure est inactive. En opérant à 15°, M. Fleischmann n'a obtenu aucune coagulation. Mais il y a à se demander si, en donnant à l'action le temps de se produire, elle n'aurait pas fini par se manifester. Pour résoudre cette question dans des conditions de sécurité parfaite vis-à-vis de l'ingérence des infiniment petits, nous n'avons qu'à revenir à l'emploi du ballon à filtre poreux qui nous a déjà servi p. 129. J'ai constaté, par ce moyen, qu'en ajoutant à du lait $\frac{1}{250}$ de son volume de la même présure qui nous a servi plus haut, et qui coagulait facilement, à 35°, 10 000 fois son volume de lait, le mélange pouvait rester un mois à la température de 15°, sans subir aucune coagulation. On peut donc affirmer que la présure est tout à fait inerte à cette température. Nous verrons même plus tard qu'elle disparaît dans ces conditions, sans doute par oxydation. Il nous suffit d'avoir montré, pour le moment, combien est importante la question des températures, quand il s'agit d'étudier l'action des diastases.

II. — Caséase

La caséase est beaucoup plus difficile à étudier que la présure, parce qu'il n'y a pas, avec elle, de terme d'action facile à saisir. Tout ce qu'on peut

faire, c'est de mélanger à une même quantité de lait des doses diverses de caséase, de mettre ces mélanges au bain-marie, dans des tubes à essais de même diamètre. Le lait se décolore peu à peu, surtout si l'on a eu le soin de le prendre écrémé, et l'on tâche d'arriver pour les divers tubes au même degré de transparence, voisin de celui du liquide dans lequel était dissoute la caséase employée. On se met ainsi suffisamment à l'abri des causes d'erreur produites par les dilutions différentes des divers mélanges.

En opérant ainsi avec un liquide, riche en caséase, provenant d'une culture d'un microbe que nous apprendrons à connaître sous le nom de *Tyrothrix tenuis*, j'ai trouvé que la décoloration de la masse demandait

15 minutes	avec	1 volume de lait,	et	1	volume de liquide diastasifère.
45	—	2	—	1	—
90	—	3	—	1	—

Il n'y a pas proportionalité inverse entre les temps et les quantités de diastase, mais la variation est de même sens que pour la présure.

Quant à la température, je me suis assuré que l'activité de la diastase augmente d'abord quand la température s'élève, et décroît ensuite. C'es encore comme pour la présure. Mais le maximum m'a semblé être plus bas que pour cette dernière diastase, et se rapprocher de 30°. En revanche, la caséase est encore active aux températures basses où la présure n'agit pas, et se manifeste encore vers 4° ou 5°; c'est ce que prouvent du reste les phénomènes de maturation des fromages dans les caves à basse température, celles de Roquefort, par exemple, phénomènes qui, comme nous le verrons, sont dans la dépendance exclusive de la caséase que sécrètent les espèces microscopiques servant à la fabrication.

Ces mêmes phénomènes de maturation mettent en évidence une dernière particularité. Il existe des fromages dans la pâte desquels la caséase est produite à l'origine, une fois pour toutes, dès les premiers jours de la fabrication, et qui n'en mûrissent pas moins; mais ils mettent pour cela des mois ou des années. La caséase manifeste donc mieux que la présure l'influence du temps, soit qu'elle puisse agir en doses beaucoup plus faibles, soit qu'elle redoute moins l'oxydation et puisse ainsi produire, sans encombre, des actions de beaucoup plus longue durée.

III. — Sucrase

Avec la sucrase, la marche de l'action est différente de ce qu'elle est avec la présure. On n'apprécie les effets de celle-ci que par le phénomène, en somme grossier, de la coagulation, qui peut être plus ou moins complète, lorsque l'œil, jugeant d'après l'identité des caractères extérieurs, la considère comme terminée. La marche des effets de la sucrase peut être suivie, au contraire, avec une précision assez grande, au moyen de la liqueur de Fehling. Les incertitudes que nous rencontrions tout à l'heure, et que nous avons fait tourner au profit

d'une loi régulière, n'ont plus de place ici. Nous allons voir que la loi n'a pas disparu pour cela, mais elle n'est vraie que dans des limites et des conditions plus étroites qu'à propos de la présure, de sorte que les différences que nous avons à signaler entre les deux diastases sont peut-être tout aussi bien l'effet des différences dans les procédés d'observation et de mesure, que celui de la diversité fonctionnelle des diastases elles-mêmes.

La solution de sucrase, la meilleure et la plus active que je connaisse, s'obtient au moyen de la plante que nous apprendrons bientôt à cultiver sous le nom d'*Aspergillus niger*. Quand on a obtenu cette mucédinée en couche épaisse, sur un liquide convenable, qu'elle a épuisé de son sucre, on siphonne ce liquide et on le remplace par une solution de sucre candi. Celui-ci est interverti et brûlé peu à peu. A partir du moment où il commence à manquer, la sucrase sécrétée par la plante s'accumule dans le liquide. Au bout de trois ou quatre jours, elle est en solution assez concentrée pour tous les usages, et assez débarrassée de sels minéraux pour pouvoir manifester les effets que nous indiquerons au chapitre suivant.

Marche de la transformation du sucre. — Quand on introduit un peu de cette diastase dans une solution sucrée à 20 ou 25 p. 100, et qu'on expose le mélange à une température voisine de 40°, l'effet commence de suite, et la quantité de sucre transformée est, au moins dans les premiers instants, proportionnelle au temps. Mais l'action ne tarde pas à se ralentir. A partir du moment où le sucre devient rare, les quantités transformées dans l'unité de temps vont en décroissant, et, lorsqu'il n'y en a plus que très peu, et que la quantité de diastase employée était d'ailleurs faible, la lenteur devient telle que la transformation totale peut durer des mois entiers.

Pour donner une idée de la marche des phénomènes, je dirai qu'en exposant à 34° une dissolution de sucre à 20 p. 100, avec une quantité de sucrase impure représentant environ $\frac{1}{1\,000}$ du poids du sucre, les quantités transformées ont été proportionnelles aux temps pendant les quatre premières heures, et représentaient, au bout de ce temps, environ un huitième du poids total du sucre. La transformation des sept autres huitièmes a demandé cent vingt heures, et, dans cet intervalle, a été en se ralentissant de plus en plus.

Si, pour nous conformer à la règle que nous nous sommes posée plus haut pour la présure, nous évaluons la force de la diastase par la quantité de sucre qu'elle transforme dans l'unité de temps, lorsque la marche du phénomène est régulière, on voit que la diastase ci-dessus peut transformer, en une heure, 60 fois environ son poids de sucre. Mais ce chiffre est très contingent, comme il l'était tout à l'heure, et j'ai vu que la sucrase peut transformer 4 000 fois son poids de sucre, si on lui donne le temps nécessaire pour cela.

Dire que la marche de l'interversion du sucre est, dans les premiers moments du moins, proportionnelle au temps, c'est dire, sous une autre forme, que a diastase ne s'use pas et ne se détruit pas en agissant. On ne comprend pas un effet proportionnel au temps produit par une cause qui s'use en produisant son effet.

Mais alors, comment expliquer que la diastase devienne de moins en moins active? On a le droit de faire, pour cela, deux hypothèses également plausibles. Ou bien le sucre, en excès à l'origine, favorise l'interversion, ou le sucre interverti, en excès à la fin, la retarde.

Pour juger ces deux hypothèses, mettons la même quantité de diastase, 20 milligrammes, par exemple, dans 100 centimètres cubes de solutions à 10, 20 et 40 p. 100 de sucre, et exposons le tout à une température de 37°. Voici ce que nous observerons.

Pendant les premières heures de l'action, les quantités de sucre, interverties dans l'unité de temps, seront les mêmes dans les trois liqueurs, ce qui prouve que la diastase produit son effet, toujours le même, sans se préoccuper de la proportion centésimale du sucre qui l'entoure. La première hypothèse n'est donc pas d'accord avec l'expérience, et on ne peut pas dire qu'un excès de sucre en active la transformation. Cependant, s'il y en a trop peu, l'action devient plus lente. Dans les liqueurs ci-dessus il y a, au bout de quatre heures, 5 grammes de sucre interverti. Si l'on opère en même temps sur une liqueur ne renfermant que 5 grammes de sucre, on trouve qu'ils ne sont pas complètement transformés au bout de quatre heures, par la même quantité de sucrase. Mais la différence est faible, et attribuable à la dilution croissante du sucre, venant se superposer à la dilution énorme de la diastase.

Continuons l'étude du phénomène, pour arriver à discuter notre seconde hypothèse. Au fur et à mesure que l'action se poursuit, la loi de proportionnalité avec le temps, que nous avons visée plus haut, cesse de se vérifier, d'abord, comme on a le droit de s'y attendre, pour la liqueur la moins concentrée, puis successivement pour les deux autres. Il en résulte que ces dernières prennent l'avance dans l'ordre des quantités de sucre qu'elles contiennent, et que les durées totales de l'interversion croissent moins rapidement que les poids de sucre à intervertir.

On a évidemment le droit de considérer le moment où cette proportionnalité cesse comme celui où commence à agir, d'une façon sensible, la cause inconnue du retard et de la lenteur qui accompagne le phénomène vers la fin. Or, l'expérience montre que ce retard se produit à peu près de la même façon pour les liqueurs à 30 et 40 p. 100 de sucre, à partir du moment où elles renferment toutes deux environ 8 p. 100 de sucre interverti, lorsqu'elles contiennent par conséquent encore 12 et 32 p. 100 de sucre cristallisable. Le retard subi semble donc bien plus sous l'influence du premier de ces sucres que du second. Les deux transformations marchent parallèlement pendant quelques heures, puis la liqueur à 40 p. 100 prend l'avance, parce que la dilution de la matière première de l'action augmente dans l'autre. Bref, le retard subi semble dépendre, comme facteur principal, de l'augmentation des produits de la réaction dans la liqueur; comme facteur moins important, de la diminution de la quantité de sucre cristallisable.

Je n'ai pas réussi à mettre en évidence un effet quelconque attribuable à l'épuisement ou à la destruction de la diastase. Avec la liqueur à 40 p. 100 de sucre, l'action a duré neuf jours. La sucrase y avait interverti, au minimum, 2 000 fois son poids de sucre. On a bien le droit d'admettre qu'elle s'était dé-

pensée et détruite en plus fortes proportions que dans la liqueur à 10 p. 100 de sucre, où l'action n'a duré que 72 heures environ, et même que dans la liqueur à 20 p. 100, qui a demandé 120 heures pour se transformer. Cependant, en diluant avec de l'eau ces trois liqueurs, de façon à y amener les proportions de glucose au-dessous de la limite que nous venons de trouver active, et en y ajoutant du sucre, on constate que celui-ci se transforme, dans les premiers moments, à peu près aussi vite dans la première que dans la dernière, et qu'il y a, par conséquent, partout à peu près la même quantité de diastase.

Il faut, pour assurer le succès de l'expérience, éviter les causes de destruction de la sucrase qui ne sont pas le fait de l'opération elle-même, car nous verrons qu'elles proviennent surtout de l'action de la lumière et de l'oxygène. Mais ce n'est pas le moment d'y insister, nous les retrouverons au chapitre suivant.

Influence de la quantité. — Si, comme nous venons de le voir, les premiers produits de l'action de la sucrase gênent son action ultérieure, il ne faut pas s'attendre à trouver que les quantités de sucre interverties, dans le même temps et à la même température, croissent aussi rapidement que les quantités de sucrase agissantes. On ne retrouve, en effet, une proportionnalité approchée entre ces deux facteurs que lorsqu'on opère sur de très faibles quantités de sucrase, ou lorsqu'on arrête l'action à son début pour de plus fortes proportions de diastase, de façon à ce qu'il n'y ait jamais que 10 à 20 p. 100 du sucre total ayant subi l'interversion. Pour de plus fortes proportions de diastase ou des actions plus complètes, l'effet croît moins rapidement que la cause, et on arrive à des proportions telles que l'augmentation dans la quantité de sucrase ne produit plus d'effet. C'est un fait analogue à celui que nous avons constaté pour la présure, et attribuable à la même cause.

Influence de la température. — En faisant agir à diverses températures de la sucrase sur du sucre, en proportions telles qu'il n'y ait au bout de 8 heures qu'un cinquième du sucre transformé, au maximum, j'ai trouvé que la puissance de la diastase pouvait être représentée par les chiffres proportionnels suivants :

Températures.	11°	17°	28°	42°	56°	87°
Quantités de sucre interverti. .	5	8	16	75	100	0

Le maximum n'est pourtant pas à 56°, et m'a semblé placé un peu au delà. Les chiffres ci-dessus ne sont donc pas des chiffres absolus, mais ils indiquent suffisamment la marche générale du phénomène. Il faut remarquer pourtant qu'ils ne s'appliquent qu'au cas où le sucre, au moment de la mesure, est encore en grand excès dans la liqueur. Ce sont, comme nous l'avons vu, les conditions les plus favorables pour qu'on puisse compter sur la proportionnalité de la quantité de diastase à l'action produite.

IV. — Amylase

Le problème que nous nous sommes posé dans ce chapitre a été étudié, pour l'amylase, par M. Kjeldahl, au laboratoire de Carlsberg. Nous résumons ici

ses principaux résultats, en faisant observer qu'ils ont été obtenus avec de l'extrait de malt, c'est-à-dire dans des conditions où le mélange de matières étrangères avec la diastase ne permettait peut-être pas à celui-ci de manifester toutes ses propriétés.

Influence des quantités d'extrait. — 10 grammes d'amidon à l'état d'empois, laissés en contact, pendant 10 minutes, avec des quantités croissantes d'extrait de malt, ont donné les quantités croissantes de maltose consignées dans le tableau que voici :

Avec 2cc	d'extrait de malt.	0gr,313	de sucre.
— 4	—	0 ,596	—
— 8	—	1 ,070	—
— 12	—	1 ,300	—

On voit qu'il n'y a pas de proportionnalité, sauf, approximativement, pour les deux premiers essais. La quantité de sucre produit augmente ensuite moins rapidement que la quantité de diastase; elle finit par rester à peu près stationnaire à partir de 15 centimètres cubes de ce même extrait pour 10 grammes d'amidon.

Il y a à tirer de ces faits une double conclusion, l'une pratique, l'autre théorique. La conclusion pratique est qu'il est inutile d'augmenter au delà d'une certaine limite la diastase d'une liqueur à saccharifier, et cela a de l'importance pour la fabrication de la bière. La conclusion théorique est que, pour pouvoir comparer avec quelque précision les puissances saccharifiantes, et par conséquent les richesses en diastase de deux extraits de malt, il faudra les faire agir, à la même température et dans les mêmes conditions, sur des quantités d'amidon assez grandes pour que l'action ne soit pas trop avancée au moment où on la mesure. Il faut que la quantité de sucre produit en 10 minutes représente au maximum 20 à 30 p. 100 de l'amidon employé, et encore, d'après mes expériences, cette limite semble devoir être abaissée.

Influence du temps. — On peut, encore ici, remplacer par l'influence du temps celle d'une diminution dans la proportion de diastase. Mais j'ai observé qu'on ne retrouve pas cette proportionnalité inverse entre les quantités d'amylase et les durées de la réaction que nous avons rencontrée à propos de la présure. Il n'y a pas à s'en étonner, si l'on se rappelle que, pour l'amylase comme pour la sucrase, l'action se ralentit d'autant plus qu'elle est plus avancée. M. Kjeldahl a essayé de prouver que ce ralentissement ne pouvait pas être attribué à l'augmentation croissante des produits de la réaction; mais les raisons qu'il a données à ce sujet ne semblent pas probantes.

Influence de la température. — Cette influence a été étudiée avec 8 centimètres cubes d'extrait de malt, 10 grammes d'amidon et 15 minutes de contact, à diverses températures. Le pouvoir réducteur va en croissant très rapidement de 17 à 30°, moins rapidement de 30 à 40°. La croissance est continue, mais faible jusqu'à 63°, où il y a un maximum, à partir duquel la décroissance a lieu avec une très grande rapidité; de sorte que, vers 85°, il n'y a plus de transformation de l'amidon en sucre.

Cette irrégularité dans la marche croissante de l'action vient, sans doute, de

ce que cette action est complexe, et ne se manifeste pas toujours par le même phénomène, comme nous allons le voir. La même cause introduit aussi peut-être une erreur sur l'appréciation de la température du maximum, qui est sans doute évaluée trop bas. Il ne faut prendre ces chiffres que comme représentant la marche de la production du maltose aux dépens de l'amidon. Cette saccharification a son importance pratique, mais n'est qu'une partie de l'effet de l'amylase sur l'amidon.

Nous rencontrons, en effet, ici le premier exemple bien étudié d'une action qui change non seulement d'allures, mais de nature avec la température. Il n'est pas probable qu'elle soit la seule dans ce cas. Il se peut, au contraire, que beaucoup d'actions envisagées comme simples, telles que celle de la sucrase sur le sucre candi, présentent des phénomènes du même ordre que ceux que nous allons envisager, en les étudiant avec soin, à cause de leur importance à la fois théorique et pratique.

L'amylase joue, en effet, un rôle trop grand dans la fabrication de la bière pour qu'on n'ait pas depuis longtemps recherché avec soin l'influence de la température sur l'action qu'elle exerce. Mais les résultats sont restés confus jusqu'au moment où M. O'Sullivan a montré quel était le mécanisme de la saccharification.

Nous avons vu que l'amidon peut se dédoubler complètement, sous l'influence de l'amylase, en maltose, qui, séché à l'air, a pour formule, $C^{12}H^{11}O^{11} + HO$, a pour pouvoir rotatoire $\rho_d = 139°,3$, d'après M. Soxhlet, et réduit la liqueur de Fehling, comme le feraient environ les deux tiers de son poids de glucose.

En partant de cette notion fondamentale, il est facile d'exposer les résultats obtenus par M. O'Sullivan, dans l'étude de l'action de la température sur la réaction. Nous serons ainsi dispensés d'entrer dans l'examen des résultats contradictoires obtenus avant lui, et qui tous trouvent leur explication et leur raison d'être dans les siens.

L'amylase n'agit pas à froid sur l'amidon cru, qui reste absolument inaltére, mais elle dissout à froid l'empois d'amidon, et d'autant plus complètement que la transformation en empois est plus parfaite. L'action est aussi d'autant plus complète que la proportion de l'amylase est plus grande et le temps du contact plus prolongé. Elle peut aller jusqu'à une transformation à peu près complète en maltose. M. O'Sullivan a trouvé jusqu'à 90 p. 100 de cette substance, mais le chiffre peut descendre jusqu'à 67 p. 100 environ.

Lorsqu'on fait agir l'extrait de malt sur l'amidon, à une température de 63°, si, au bout de 5 ou 10 minutes, on refroidit rapidement et on filtre la solution, le produit contient invariablement un mélange de 68 p. 100 de maltose et de 32 de dextrine. Le pouvoir rotatoire est d'accord avec cette composition, et le pouvoir réducteur sur la liqueur de Fehling est de 44 environ, c'est-à-dire que le produit de la réaction réduit la liqueur de Fehling autant que le feraient les $\frac{44}{100}$ de son poids de sucre interverti. C'est le chiffre théorique correspondant aux proportions indiquées de maltose, avec son pouvoir réducteur de 66, et de dextrine qui ne détruit pas la solution cuivrique. Nous trouvons là la réaction que nous avons indiquée plus haut, et caractérisée par l'équation

$$3C^{12}H^{10}O^{10} + 2HO = 2C^{12}H^{11}O^{11} + C^{12}H^{10}O^{10}.$$

Si l'on fait agir l'extrait de malt à une température comprise entre 64° et 68°-70°, et si, comme tout à l'heure, on refroidit et on filtre la solution après quelques minutes de contact, on trouve, dans le produit, un mélange de 34,5 de maltose pour 65,5 de dextrine. Le pouvoir réducteur vis-à-vis de l'oxyde de cuivre devient 22,4, et la réaction peut s'écrire

$$3C^{12}H^{10}O^{10} + HO = C^{12}H^{11}O^{11} + 2C^{12}H^{10}O^{10}.$$

Lorsque l'action a lieu vers 68°-70°, températures voisines de celles où l'amylase est détruite, et si la solution est encore refroidie et filtrée au bout de quelques minutes, elle contient un mélange de 17,4 p. 100 de maltose et de 82,6 p. 100 de dextrine, le pouvoir réducteur vis-à-vis de la liqueur de Fehling est de 11,3, et la réaction peut s'écrire

$$6C^{12}H^{10}O^{10} + HO = C^{12}H^{11}O^{11} + 5C^{12}H^{10}O^{10}.$$

Toutes ces diverses réactions supposent que l'extrait de malt n'est pas en excès. On se met sûrement dans ces conditions, d'après M. O'Sullivan, lorsque le poids sec de la matière solide, contenue dans la quantité d'extrait employé, est environ 5 p. 100 du poids de l'amidon. On peut donc voir, dans les faits qui précèdent, une étude de l'action de la température envisagée isolément, et on y retrouve sous une forme nouvelle des résultats de même ordre que ceux que nous avons rencontrés dans l'action des autres diastases, car si l'on se propose d'obtenir, dans le temps le plus court, le maximum de sucre fermentescible, de maltose, on voit qu'il ne faudra opérer, ni à froid où l'action est trop lente, ni à chaud où elle devient incomplète; il faudra se tenir au voisinage de 63°.

Mais si l'on fait agir, dans les cas que nous avons envisagés à part plus haut, un excès d'amylase, la réaction ne s'arrête pas au terme indiqué, la dextrine forme du maltose. La même chose arrive si l'extrait de malt est fortement acide. Voilà l'intervention des quantités, et encore elle s'exerce dans le même sens que l'action du temps, car par une digestion prolongée, la dextrine se tranforme encore en maltose et le maltose en glucose. On peut arriver ainsi à faire disparaître toute la dextrine. Nous verrons plus tard de quel intérêt sont ces constatations pour la fabrication de la bière.

Pepsine. — D'après les expériences de M. A. Petit, la pepsine subit les mêmes influences que les diastases que nous venons d'étudier.

Il importe tout d'abord de remarquer, à propos de cette substance, qu'il ne faut pas confondre la liquéfaction d'une certaine quantité de fibrine avec sa transformation en substance assimilable, en peptone, pas plus que nous n'avons dû confondre la liquéfaction et la saccharification de l'empois d'amidon. La quantité de fibrine peptonisée, comme celle d'amidon saccharifié, est toujours notablement plus petite que la quantité de fibrine ou d'amidon liquéfiés, pour les mêmes quantités de diastase. Il se passe là des phénomènes analogues à ceux que nous venons de constater à propos de la sucrase. Entre le point de départ et le point d'arrivée, il y a une série de transitions insensibles.

M. Meissner avait cru devoir y distinguer trois produits.

L'un, qu'il appelait peptone α, est précipitable par l'acide nitrique concentré et le ferrocyanure de potassium acidulé par l'acide acétique.

La peptone β ne se trouble pas par l'acide nitrique, mais est précipitée par le prussiate jaune en solution acide.

La peptone γ ne précipite ni par l'un ni par l'autre de ces deux réactifs. Elle résume la fin de l'action, et nous paraît seule avoir une existence réelle et devoir entrer en ligne de compte. Les deux autres ne sont que des créations artificielles provenant d'un jeu de réactions. Avec deux réactifs, on a fait trois peptones, avec trois réactifs on en eût fait quatre avec autant de raison. Tout ce que signifie cette création artificielle de termes, faite pour embrouiller encore une question déjà très compliquée, c'est que les matériaux soumis à l'action du suc gastrique commencent par être précipitables à la fois par l'acide nitrique et le prussiate acide, pour finir par ne plus l'être ni par l'un ni par l'autre.

Nous n'en sommes d'ailleurs encore qu'à la portion des matériaux devenus solubles sous l'action du suc gastrique. En dehors de ceux-ci, auxquels on donne le nom générique de peptones, M. Meissner distingue la parapeptone, qui se précipite lorsqu'on neutralise le suc gastrique qui a commencé la digestion, et la dyspeptone qui se précipite quand le suc gastrique n'est acidulé qu'à $\frac{2}{1000}$ d'acide chlorhydrique. Tout cet appareil compliqué de mots signifie seulement que le suc gastrique n'agit pas également sur tous les matériaux albuminoïdes, et que quelques-uns résistent à son action. Il vaut mieux dire cela tout de suite. Le résultat est plus clair que celui qui résulte de cette analyse dichotomique compliquée. En faisant digérer à un animal du pain et de la viande, la viande formerait surtout des peptones dans l'estomac, le gluten, surtout des dyspeptones. Il est plus simple de dire que la pepsine transforme facilement la fibrine et difficilement le gluten, et que si on lui présente une matière albuminoïde complexe, comme elles sont toutes, elle fait le départ de ce qu'elle peut transformer, et de ce sur quoi elle n'agit que peu ou pas.

Pour donner une idée des différences qui peuvent exister, sous ce rapport, entre pepsine et pepsine et entre matière albuminoïde et matière albuminoïde, je dirai que M. Petit a trouvé que l'albumine coagulée était plus facilement digestible pour la pepsine que la fibrine du sang, ou du moins était peptonisée pour des doses d'acide plus faibles. Dans toutes mes expériences, j'ai toujours trouvé que la fibrine se dissolvait et se peptonisait avec plus de facilité que l'albumine. Il est évident qu'il devait y avoir quelques différences dans les matériaux digérants ou digestibles dont nous nous sommes servis, mais cela même prouve qu'il ne faut, pour le moment, attacher aucune importance à ces différences, qui ne servent qu'à embrouiller, lorsqu'on les met au premier rang.

Quoi qu'il en soit, dans ses expériences, M. A. Petit s'est servi de l'albumine et de la fibrine du sang comme réactifs de l'action de la pepsine, et n'a jugé l'action de cette diastase complète, que lorsqu'en ajoutant goutte à goutte de l'acide azotique dans le produit de la digestion artificielle, filtré, s'il est nécessaire, on n'obtient ni louche local sur le parcours des gouttes, ni précipité dans la masse du liquide. Avec ce moyen, l'influence des doses de pepsine ajoutées apparaît avec une entière évidence. M. A. Petit n'a pas fait de mesures précises, mais on voit très nettement, dans ses résultats, que le temps de la

peptonisation d'une certaine quantité d'albumine ou de fibrine décroît à mesure que la dose de pepsine augmente, pour un même degré d'acidité du milieu.

Pour l'action de la température, M. Petit a vu que, avec l'albumine, la pepsine pouvait agir de 30 à 80°, avec un maximum à 50°.

Avec la fibrine, le maximum est aussi à 50°. A 40°, l'action est quatre fois moins rapide qu'à 50°. Ici, M. A. Petit dit formellement que la transformation est de moitié moins longue quand on double la dose de pepsine, de sorte que nous retrouvons là des faits que nous avons déjà rencontrés pour la présure.

La netteté de l'action sur la fibrine fait que M. Petit emploie de préférence ce corps pour faire l'essai d'une pepsine. On en ajoute 5 grammes à 25 centimètres cubes d'eau acidulée à $\frac{3}{1\,000}$ d'acide chlorhydrique et on chauffe à 50°, avec addition de pepsine. Une bonne pepsine ne doit plus donner de précipité par l'acide azotique, après 12 heures de digestion dans les flacons qui en contiendront de 25 à 30 centigrammes, et après 6 heures, dans ceux qui en renfermeront de 50 à 60 centigrammes. C'est par ce procédé qu'ont été faites toutes les expériences que nous retrouverons au chapitre suivant.

BIBLIOGRAPHIE

Béchamp. — *Bull. de l'Ac. de médecine*, 1881, et *Comptes rendus*, t. XCIV, 1882, p. 582 et 879.

Wurtz. — Sur la papaïne. *Comptes rendus*, t. XCI, 1880.

— Sur le modo d'action des ferments solubles. *Comptes rendus*, t. XCIII, 1881.

A. Gautier. — Sur les modifications soluble et insoluble du ferment de la digestion gastrique. *Comptes rendus*, t. XCIV, p. 652 et 1192.

B. Martiny. — *Die Milch.*, etc., Danzig, 1871, t. I.

Segelcke et Storch. — *Milchzeitung*, 1874, n° 89.

Soxhlet. — *Milchzeitung*, 1877, n° 38.

Fleischmann. — *Das molkereiwesen*. Brunswick, Wieweg et fils.

Bouchardat et Quevenne. — *Du lait*, Paris, 1857.

Duclaux. — Mémoire sur le lait. *Annales de l'Institut agronomique*, 1882.

Kjeldahl. — *Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet*. (Travaux du laboratoire de Carlsberg), Copenhague, 1879.

Dubrunfaut. — *Notice historique sur la distillation des bettcraves*, 1856.

O. Sullivan. — Sur les produits de la transformation de l'amidon. *Moniteur scientifique*, 1874.

Payen et Persoz. — *Ann. de ch. et de phys.*, t. LVI. p. 337.

A. Payen. — Réaction de la diastase sur la substance amylacée dans différentes conditions. *Journal de pharmacie et de chimie*, t I, 4e série, p. 363.

Dubrunfaut. — Matière azotée du malt plus active que la diastase. *Comptes rendus*, t. LXI.

Musculus. — Remarques sur la transformation de la matière amylacée en glucose et en dextrine. *Ann. de ch. et de phys.*, 3e série, t. LX.

Schwarzer. — Transformation de l'amidon par la diastase. *Journal f. Prakt chemie*. 1re série, t. I, 1870.

Schulze. — *Journal fur Landwirtschaft*. 1872, p. 209.

Marcker. — *Zeitschrift der Vereins fur Spiritus industrie*, 1870 et 1874, et *Berichte der Naturforschenden Gesellchaft zu Hall*, 1873.

Schulze. — *Berichte der Deutschen chemischen Gesellchaft*, 1874, t. VII.

Dubrunfaut. — *Ann. de ch. et de phys.*, t. XXI.

A. Petit. — *Recherches sur la pepsine*, Paris, 1880.

CHAPITRE XIII

CONDITIONS CHIMIQUES DE L'ACTION DES DIASTASES

Les réactions des diastases s'accomplissent toujours dans un milieu liquide, tenant en solution, outre la substance sur laquelle la diastase doit agir, bien d'autres matériaux divers, qui en général ne restent pas inertes, agissent sur la diastase pour en aider ou en contrarier l'action, sur la matière à transformer pour en modifier les propriétés, et la rendre plus ou moins sensible à l'action de sa diastase. L'action qui s'opère est alors une résultante assez complexe, dont il ne sera pas inutile de chercher le mécanisme dans quelques cas, parce que les résultats trouvés seront d'une application générale.

ACTION DE L'OXYGÈNE

L'un des facteurs les plus importants qui interviennent dans la réaction est l'oxygène de l'air. Une dissolution de diastase, laissée longtemps au contact de l'air, s'affaiblit, alors même qu'on la préserve de l'invasion des infiniment petits et de toutes les causes de destruction autres que le contact de l'air. L'action est surtout rapide lorsque la dissolution est un peu alcaline. On la voit alors brunir, prendre une odeur de croûte de pain ou d'extractif, et, au bout de quelque temps, elle est devenue absolument inerte.

L'oxydation est surtout rapide quand on met en jeu l'action des rayons solaires. J'ai toujours vu quelques heures d'exposition au soleil enlever presque toute leur force à des dissolutions de présure ou de sucrase, et, en étudiant de plus près ce sujet, j'ai observé des faits curieux.

Une dissolution de sucrase dans de l'eau qu'on a laissée exposée au soleil s'oxyde et s'affaiblit plus vite que dans de l'eau ayant séjourné à l'obscurité. Il y a même plus. Il suffit d'exposer au soleil le flacon où l'on introduit la dissolution, pour la voir s'affaiblir plus vite que dans un flacon laissé à l'ombre. Voici quelques nombres qui donneront une idée du phénomène. On a exposé, à 37°, 5 milligrammes d'une sucrase neutre et très pauvre en sels minéraux, provenant d'une culture d'aspergillus, avec 1gr,5 de sucre. L'eau et les flacons avaient été, au préalable, placés dans des conditions diverses suffisamment indiquées au tableau suivant. Les nombres contenus dans les deux dernières

colonnes sont les quantités de sucre transformées au bout de 15 heures dans deux essais comparatifs mis en expérience en même temps.

	1er essai.	2e essai.
	—	—
Liquide laissé à l'obscurité, flacon à l'obscurité.	0gr,066	0gr,064
— au soleil, — à l'obscurité.	0 ,046	0 ,046
— à l'obscurité, — au soleil.	0 ,040	0 ,045

Cette espèce d'emmagasinement de l'action solaire dans l'eau persiste encore après 24 heures de séjour de l'eau à l'obscurité, mais, au bout de 48 heures, il a disparu.

Avec la présure, on peut constater des faits analogues, et c'est avec raison qu'on recommande de conserver à la cave les bouteilles noires où on vend les présures commerciales, et de ne les laisser jamais débouchées. Pendant la préparation de ces présures, on observe un fait qui est sans doute en relation avec ce que nous venons de découvrir, c'est ce qu'on appelle la *rétrogradation*. Une présure, qui au moment où l'on vient de la fabriquer, peut, par exemple, coaguler 15 000 fois son poids de lait, ne peut plus en coaguler que 8 à 10 000 parties quelques semaines après. Il y a probablement là, comme nous l'avons dit plus haut, un fait d'absorption lente de l'oxygène dissous dans l'eau. Cette intervention de l'oxygène est, en effet, toujours graduelle : elle se fait plus lentement dans les liquides fortement chargés de sels, et c'est pour cela que, pour la bien observer, nous avons été obligés de nous adresser, plus haut, à une sucrase aussi pure que possible. Mais elle n'est jamais absente, et il faut toujours se tenir en garde contre elle quand on veut étudier par le menu les propriétés des diastases, comme nous allons le faire maintenant.

Nous commencerons par l'étude de l'action des sels minéraux. Les diastases étant très sensibles à l'action de quelques-uns d'entre eux, il faudra n'opérer que sur des dissolutions de diastase ou de sel aussi pures que possible. La présure étant celle que j'ai le plus étudiée, c'est par elle que je commencerai.

1. — Présure

Nous examinerons d'abord l'action des sels neutres, puis celle des substances à réaction acide ou alcaline.

Action des sels neutres. — Pour la bien comprendre, examinons d'abord l'effet que produisent les sels neutres lorsqu'ils sont mis seuls en rapport avec le lait. Le plus intéressant à étudier sous ce rapport est le sulfate de magnésie. Du lait additionné de quantités de ce sel successivement croissantes, reste d'abord intact en apparence, conserve son opacité et devient un peu visqueux. En augmentant la dose de sel, la transparence va en augmentant, bien que la dispersion des globules gras y reste la même, parce que la caséine subit une transformation moléculaire qui en modifie la nature, et en modifie aussi la solubilité.

Le modification de solubilité se manifeste par le caractère suivant : Au delà d'une certaine proportion de sulfate de magnésie, le lait se coagule avant l'ébullition, et à une température d'autant plus basse qu'il y a davantage de sel.

Avec 10 p. 100 de sel, le lait se coagule à 100°; avec 20 p. 100, à 60°, et si l'on en ajoute 50 p. 100, la coagulation se fait à 15°, c'est-à-dire à la température ordinaire. Dans tous les cas, en jetant le coagulum sur un filtre, il passe du sérum transparent.

Ce sérum ne contient plus de globules gras, qui ont été retenus par le coagulum, mais il contient encore un peu de caséine, celle dont la présence est compatible avec la dose de sel et la température de coagulation correspondante. Cette caséine se précipite à son tour si l'on augmente la dose de sel, ou si, laissant la dose constante, on pousse la température au delà du point où l'on vient de la porter pour produire le coagulum.

Le coagulum resté sur le filtre, à son tour, laisse la caséine se redissoudre si, en rajoutant de l'eau, on diminue la proportion de sel présente, et cette nouvelle solution se comporte comme du lait, c'est-à-dire qu'elle se coagule à nouveau, si on la chauffe ou si l'on y augmente la dose de sel.

La solubilité de la caséine dans une solution de sulfate de magnésie est donc fonction de la proportion de sel et de la température, ces deux actions s'exerçant dans le même sens. Elle est aussi fonction du temps, car du lait additionné de un cinquième de ce sel, et maintenu à une température constante de 37°, reste intact dans les premiers moments, et se coagule au bout de 3 ou heures.

En d'autres termes, le sulfate de magnésie exerce sur le lait une influence de même sens que la présure. Il y a plus. Les autres sels neutres semblent se comporter comme le sulfate de magnésie. Tous, ou presque tous, rendent la caséine d'autant moins soluble qu'ils sont en proportions plus considérables. Voici, pour résumer ce qui est relatif à ce genre d'actions, les proportions centésimales des sels divers qui produisent la coagulation à l'ébullition et à la température ordinaire, c'est-à-dire vers 15°. Lorsqu'un chiffre fait défaut, c'est que la coagulation est impossible à la température correspondante, par défaut de solubilité du sel, ou bien que la coagulation, au lieu d'être instantanée, est graduelle et subit l'influence du temps.

	Coagulation à 100°.	Coagulation à 15°.	Observations.
Nitrate de potasse	40	»	Sel trop peu soluble.
Sulfate de potasse	10	»	»
Chlorure de potassium	20	»	Précipitation graduelle.
Nitrate de soude	46	90	*Id.*
Sulfate de soude	13	»	»
Chlorure de sodium	10	35	»
Nitrate d'ammoniaque	30	»	Avec les sels d'ammoniaque et de magnésie, la caséine est gélatinisée et rendue transparente par de fortes proportions de sel.
Sulfate d'ammoniaque	6	18	
Nitrate de magnésie	»	80	
Sulfate de magnésie	10	50	
Chlorure de magnésium	0,5	30	
Nitrate de baryte	0,5	»	Les sels de ces métaux laissent la caséine très opaque, mais la précipitent lentement à froid, et l'intervention du temps rend la mesure de la proportion peu sûre.
Chlorure de baryum	0,5	8	
Nitrate de strontiane	0,5	24	
Chlorure de strontium	0,5	8	
Chlorure de calcium cristallisé	0,5	12	
Alun	0,5	»	

On voit que tous les sels neutres se comportent de la même manière, et ce qui autorise encore plus à assimiler leurs actions, c'est qu'ils peuvent se remplacer les uns les autres. Du lait, additionné d'une quantité de sulfate de magnésie insuffisante pour le coaguler à une température déterminée, se coagule si l'on y ajoute du sel marin, par exemple, ou un des autres sels du tableau de plus haut, ne précipitant pas le sulfate de magnésie.

Les observations consignées au tableau montrent qu'à côté de cette action générale, il y a des actions spéciales aux divers sels. Les sels de magnésie et d'ammoniaque donnent un coagulum gélatineux ou transparent, ou du moins à transparence cornée. Les sels des métaux terreux donnent, au contraire, un coagulum opaque. Il y a là une action spéciale sur la caséine, que nous allons retrouver, en examinant l'influence de la présure sur le lait additionné de sels divers.

On peut résumer brièvement ce qui se passe dans ces conditions en disant que l'action du sel et celle de la présure s'entr'aident. Du lait, additionné de sel et de présure, se coagule toujours plus vite que du lait additionné seulement de sel. Ceci est tout à fait général, mais l'autre combinaison n'est pas vraie, c'est-à-dire que du lait, additionné de sel et de présure, ne se coagule pas toujours plus vite que du lait seulement additionné de présure. On comprend pourquoi. La caséine additionnée de sel n'est plus de la caséine. Pour de certaines proportions de sel, elle est immédiatement précipitable à froid, et n'accuse plus l'influence de la présure. Pour des proportions moindres, et, de préférence, avec les sels qui lui donnent cette transparence dont nous parlions tout à l'heure, l'expérience montre qu'elle est plus résistante à l'action de la présure qu'à l'état où elle existe ordinairement dans le lait, et ce n'est que pour les proportions, variables d'un sel à l'autre, qui laissent intacte sa constitution intime, qu'on retrouve le phénomène d'une coagulation plus rapide avec sel et présure qu'avec présure seule. En d'autres termes, tant que la caséine n'est pas modifiée, l'action du sel peut remplacer en partie celle de la présure. Avec de la caséine modifiée par l'action du sel employé, la présure rend encore la précipitation plus rapide. Enfin pour les doses de sel qui donnent une coagulation immédiate, il est très difficile de séparer l'action de la présure de celles que produisent ces doses de sel.

Si l'on voulait n'envisager la question qu'à un point de vue théorique pur, on devrait caractériser l'action de chaque proportion de sel en mesurant les temps de coagulation, d'abord du lait avec sel, puis du lait avec sel et présure, à la même température. On obtiendra des nombres ayant une signification théorique moins rigoureuse, mais plus intéressante au point de vue pratique, en mesurant les temps de coagulation du lait avec sel et présure, et du lait avec présure seule, les conditions de température étant les mêmes, et la quantité de présure employée étant celle qui amène la coagulation dans les limites voulues par les habitudes industrielles, c'est-à-dire une demi-heure à trois quarts d'heure environ. Ce sont les rapports R de ces deux temps qui figurent au tableau ci-dessous. Ils sont plus petits que l'unité lorsque le sel est de nature ou se trouve en proportions telles qu'il n'agit pas sur la caséine. Le lait avec présure et sel se coagule alors plus vite que le lait normal avec présure seule. Il se coagule moins vite quand la caséine est modifiée.

Dans les tableaux ci-dessous, les chiffres de la première colonne horizontale sont les poids, sur 100 000 parties de lait, des divers sels de la première colonne verticale. Les chiffres placés à l'intersection des deux colonnes sont les valeurs correspondantes du rapport R défini comme nous l'avons fait plus haut.

	4	8	20	40	100	400	800	5000	10000
Nitrate de potasse.	1,00	1,00	1,00	1,00	1,05	1,14	1,85	13,0	»
Sulfate de potasse.	1,00	1,00	1,00	1,00	»	1,40	1,75	»	»
Chlorure de potassium.	»	0,95	1,00	»	1,02	1,10	»	»	»
Phosphate de potasse.	1,00	1,00	1,00	1,04	»	2,60	4,00	0,66	0,4
Nitrate de soude.	1,00	1,00	1,00	1,03	1,10	1,47	2,00	>12	»
Sulfate de soude.	1,00	1,00	1,00	1,00	1,05	1,42	1,80	»	»
Chlorure de sodium.	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,20	1,37	3,4	3,0
Phosphate de soude.	0,94	»	0,87	1,07	»	2,00	5,50	»	3,0
Nitrate d'ammoniaque.	1,00	1,00	1,00	1,00	»	1,10	1,20	»	»
Sulfate d'ammoniaque.	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,02	1,05	»	»
Chlorhydrate d'ammoniaque.	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,06	1,12	»	»
Nitrate de magnésie.	0,97	0,94	0,87	0,77	»	0,40	0,50	>33	»
Sulfate de magnésie.	»	»	»	»	»	»	0,90	2,2	4,3
Chlorure de magnésium.	»	»	»	»	0,56	0,43	0,53	4,5	»
Nitrate de baryte.	1,00	0,93	0,86	0,78	»	0,30	0,21	0,70	2,14
Chlorure de baryum.	1,00	1,00	0,89	0,75	»	0,12	»	0,45	1,60
Nitrate de strontiane.	1,00	0,92	0,84	0,70	»	0,28	»	0,60	2,00
Chlorure de strontium.	»	»	»	0,71	0,50	0,21	0,23	0,50	1,20
Nitrate de chaux.	0,94	»	0,83	0,75	»	0,20	0,15	»	»
Sulfate de chaux.	»	»	0,94	0,91	0,83	»	»	»	»
Chlorure de calcium.	0,91	0,88	0,83	»	0,50	0,30	0,31	2,1	>10

En comparant entre eux les nombres compris dans ce tableau, on voit que les sels neutres de potasse, de soude et d'ammoniaque ont tous la propriété commune, avec des variations insignifiantes, de n'aider ni contrarier l'action de la présure, quand ils sont en proportions faibles, de rendre la caséine plus difficilement précipitable lorsque leur proportion augmente. Finalement, quelques-uns d'entre eux précipitent par eux-mêmes la caséine, et introduisent dans le phénomène l'accélération que traduisent les derniers nombres du tableau.

Les sels de magnésie, de baryte, de strontiane et de chaux commencent, au contraire, par aider à l'action de la présure, et se montrent même sous ce point de vue extrêmement actifs. Un dix-millième de chlorure de calcium rend la précipitation du caséum par la présure deux fois plus rapide, et les autres chlorures sont à très peu près aussi actifs.

Une réflexion va rendre ce fait intéressant. Nous avons vu que lorsqu'on met trop peu de présure dans le lait, celle-ci n'y manifeste aucun effet et passe inaperçue. Supposons que, par un mécanisme quelconque, le lait apporte avec lui, de la mamelle de la vache, cette dose infinitésimale de présure. Il serait alors incoagulable par lui-même, mais il se coagulerait très facilement sous l'influence de quelques gouttes d'une dissolution étendue de chlorure de calcium, ou d'un autre chlorure terreux, qui constituerait alors une véritable présure.

Quoi qu'il en soit, au point de vue pratique, nous observons nettement l'an-

tagonisme entre les sels des métaux alcalins et ceux des métaux terreux et alcalino-terreux. Un lait où la proportion des premiers augmente devient moins facilement coagulable par la présure; un lait où il y a plus de sels de chaux l'est au contraire plus. Il est vrai que le chlorure de calcium n'a pas été signalé dans le lait, et j'ai même vainement essayé, en utilisant son action sur la présure comme réactif très sensible, d'en démontrer la formation de toutes pièces en ajoutant au lait des chlorures alcalins et du sulfate de chaux, mais ce dernier sel est fréquemment présent, et il suffit qu'il y en ait un millième pour modifier notablement le temps de la coagulation du lait par la présure.

Il y a à tirer de tous ces faits une conclusion. On a très fréquemment observé, dans les laiteries et les fromageries, que le lait ne se comporte pas toujours de même vis-à-vis de la présure, même à 24 heures de distance. Mais, comme il est rare qu'on y mesure avec précision la température, la dose de présure, le temps de la coagulation, il y a, dans les variations possibles de ces trois éléments, de quoi expliquer toutes les irrégularités observées. En reprenant la question avec soin, j'ai vu qu'au moins avec des animaux non soumis à la stabulation permanente, le lait de deux traites, séparées par un intervalle de 24 heures, n'était jamais, au point de vue de son temps de coagulation, absolûment identique à lui-même.

Il faut donc recourir, pour expliquer ce phénomène, à des variations dans la nature du lait. Mais les résultats précédents prouvent qu'on n'a pas le droit de les reporter toutes sur la caséine, comme on le fait d'ordinaire. Sans doute il doit y avoir une action appartenant à la caséine seule, ainsi que le prouve le fait, déjà signalé, que le lait bouilli se coagule plus difficilement qu'avant l'ébullition. Mais nous venons de voir que les éléments en solution dans le liquide jouaient aussi un rôle, et il faut s'occuper d'abord de faire le départ de ce qui leur revient et de ce qu'il faut attribuer à la caséine seule.

Ce que nous venons de démontrer vrai, à propos de cette substance albuminoïde, l'est très probablement pour les autres. L'albumine se coagule aussi à plus basse température en présence qu'en l'absence des sels, et nous trouverons, dans l'action des autres diastases, des faits que nous ne pourrons convenablement interpréter qu'en les rapportant aux faits précédents, qu'il nous sera utile alors d'avoir examinés avec le soin qu'ils méritent.

Nous avons d'abord à continuer l'étude des actions que subit la caséine en présence des substances à réaction acide et alcaline.

Action des acides. — Les acides coagulent le lait, comme on sait. Le coagulum qu'ils produisent n'a pas une composition identique à celui qu'on obtient au moyen de la présure. Les sels solubles dans les acides, tels que le phosphate de chaux, y sont moins abondants, mais le mécanisme de l'action ne semble pas très différent. La sensibilité du lait vis-à-vis des acides augmente avec la température, comme avec la présure. Le fait est surtout sensible avec les acides faibles, comme l'acide acétique. On peut ajouter assez de cet acide au lait pour que la réaction devienne très sensiblement acide au papier de tournesol, sans voir apparaître, même au microscope, de précipité à la tempéra-

ture ordinaire. Il ne se forme un fin précipité muqueux que vers $\frac{8}{1\,000}$ d'acide acétique, mais le caséum ne se précipite complètement, et le liquide, jeté sur un filtre, ne passe limpide que lorsqu'on a dépassé $\frac{1}{100}$ d'acide acétique.

Si l'on chauffe, il en faut moins. Il en faut seulement $\frac{4}{1\,000}$ à 35° et $\frac{1}{2\,000}$ à 100°. Avec d'autres acides plus actifs, tels que l'acide lactique et surtout les acides minéraux, les proportions doivent être plus faibles ; mais, en somme, l'action des acides ressemble à celle de la présure et des sels. Les doses coagulantes sont décroissantes quand la température est croissante.

L'acide carbonique ne déroge pas à la loi. Il ne coagule pas le lait à froid, même sous une pression de plusieurs atmosphères. Mais du lait, saturé à froid de ce gaz, se coagule lorsqu'on le chauffe, en vases clos, à une température comprise entre 115 et 120°.

On peut s'attendre, par suite, à voir la présure aidée dans son action par l'acidité de la liqueur. C'est en effet ce qui arrive, et, de ce côté encore, la ressemblance se continue.

Action des bases. — Par contre, l'action de la présure est très nettement contrariée par l'alcalinité de la liqueur. La mesure du retard est difficile, car la coagulation est graduelle, mais le retard est certain. Il y a encore à noter ici que le coagulum est plus opaque et plus ferme avec les bases terreuses, telles que la chaux et le baryte, qu'avec les bases alcalines : potasse, soude et ammoniaque, avec lesquelles le précipité reste volontiers gélatineux, et ne se forme même plus lorsque les doses deviennent un peu fortes, par suite d'une action sur la caséine que nous retrouverons plus tard.

Action des sels alcalins. — Nous sommes préparés maintenant à aborder l'étude de l'action des sels alcalins formés par l'union des alcalis avec les acides de la famille du carbone. Nous laissons tout de suite de côté les silicates de potasse et de soude, qui ne peuvent entrer en solution que par un grand excès de base, et pour lesquels l'effet de l'acide est noyé dans l'effet prédominant de l'alcalinité du liquide. Mais avec le carbonate de soude et le borax, on obtient des effets de même ordre.

Avec $\frac{1}{500}$ de ces deux sels, le lait reste intact à froid. Avec $\frac{1}{300}$, à une température de 35° environ, il perd peu à peu son opacité, et sa transparence, mesurée par un moyen quelconque, par exemple par le lactoscope Donné, augmente régulièrement avec le temps, et à peu près avec la même vitesse, lorsque les deux sels sont employés en proportions équivalentes. Elle augmente plus rapidement si l'on chauffe davantage. On la produit en quelques minutes dans du lait additionné de $\frac{1}{3\,000}$ de carbonate de soude, et chauffé à 115°. En forçant, à toutes les températures, les doses des deux sels, on obtient un liquide visqueux, colloïdal. La caséine y a été complètement transformée.

Ces effets ont déjà été constatés avec les sels neutres et s'y accompagnent d'un retard à l'action de la présure. Il en est de même ici. Avec $\frac{1}{1\,000}$ de borax à 37°, la coagulation devient quatre fois plus lente, et seize fois avec $\frac{2}{1\,000}$ de ce sel. L'acide borique qui, comme on sait, n'est pas un acide franc et agit comme une base vis-à-vis de certains papiers réactifs, se comporte comme le borax. Il augmente la transparence du lait où on l'introduit, et retarde aussi l'action de la présure. La coagulation devient cinq fois plus lente avec $\frac{1}{2\,000}$ d'acide borique, et vingt fois plus lente avec $\frac{1}{1\,000}$.

Appelons, d'une manière générale, *paralysants* les corps qui paralysent ou arrêtent l'action des diastases, on voit que l'acide borique est un paralysant plus actif de la présure que le borax. Nous comprenons, avec cela, le rôle de ces corps lorsqu'ils sont employés pour empêcher le lait de se coaguler. L'acide borique paralyse l'action des présures produites par les ferments de la caséine. Comme c'est le plus souvent le ferment lactique qui se développe dans le lait, et qui le coagule, non parce qu'il y introduit de la présure, mais parce qu'il le rend acide, le borate de soude, qui y amène de l'acide borique et un alcali, sera souvent plus efficace, parce qu'il combat à la fois deux causes de coagulation. Mais aucun de ces corps n'empêche d'une manière absolue le lait de se cailler, à moins qu'on ne l'emploie à des doses qui transforment la caséine, et ne permettent plus de donner le nom de lait au liquide où on l'a introduit.

II. — Sucrase

En étudiant la sucrase comme nous venons d'étudier la présure, nous allons rencontrer des faits de même ordre. Ici encore, nous prendrons, pour caractériser l'effet de chaque sel, le rapport des quantités de sucre interverti dans le même temps, à 37°, par la même quantité de sucrase, en l'absence, et en présence du sel. Nous avons choisi la température de 37°, bien qu'elle ne soit pas celle du maximum d'action, parce que nos résultats seront immédiatement applicables à l'étude des phénomènes de la digestion. En prenant d'ailleurs le rapport comme nous venons de le dire, sa valeur sera immédiatement comparable à celle qui a été trouvée plus haut pour la présure. Plus petite que l'unité, elle prouvera que l'effet du sel ajouté est d'activer les effets de la sucrase. Plus grande que l'unité, elle caractérisera les paralysants de la sucrase, au sens que nous avons donné plus haut à cette expression.

Il faut du reste ici, comme à propos de la présure, remarquer que l'on ne peut ajouter aucun sens absolu à la valeur de ce rapport, qui n'est pas complètement indépendant du temps au bout duquel on mesure les quantités de sucre interverti, qui dépend aussi de la température suivant une loi encore inconnue, qui, de plus, changerait peut-être si l'on changeait le mode d'évaluation. Ceci veut dire que les chiffres donnés ci-dessous ne sont pas caractéristiques du sel

ou de la proportion de sel auxquels ils se rapportent. Mais les variations qu'ils subissent, des divers chefs énoncés, sont faibles et ne vont jamais à transformer un rapport plus grand en un rapport plus petit que l'unité. Du moins je n'ai pas encore rencontré d'exemples de ce fait. Cela suffit pour les renseignements que nous aurons à en tirer.

Action des sels neutres. — Cela posé, voici un tableau qui résume l'action des sels que j'ai fait agir sur la sucrase. Comme à propos de la présure, les chiffres portés dans la première ligne sont les poids des sels purs du commerce, mis en présence de 100 000 parties de dissolution sucrée.

	400	800	2 000	4 000	10 000
Sulfate de potasse.	1,06	1,27	0,93	0,66	»
Chlorure de potassium.	0,96	1,02	1,06	1,10	1,13
Sulfate de soude.	2,00	1,51	1,17	0,62	»
Chlorure de sodium.	0,94	0,95	0,96	1,06	»
Sulfate de magnésie.	2,06	1,93	1,50	1,15	»
Chlorure de magnésium. . . .	2,68	3,40	3,00	1,90	»
Chlorure de calcium.	7,40	11,50	13,00	14,00	»
Chlorure de baryum.	0,90	0,90	0,75	0,71	»

Ces quelques nombres, envisagés en eux-mêmes, ou comparés à ceux que nous a fournis l'étude de la présure, donnent des notions instructives.

Les trois sulfates de potasse, de soude et de magnésie, qui sont d'abord des paralysants de la sucrase, sont de moins en moins actifs au fur et à mesure que leur proportion augmente; les deux premiers finissent même par accélérer l'action de la diastase, et il en serait probablement de même pour le dernier. C'est un effet inverse de celui qu'ils exercent sur la présure. On voit, en outre, qu'une même substance peut avoir un effet variable suivant ses proportions.

Les chlorures de potassium et de sodium commencent par accélérer l'action et la retardent ensuite, comme pour la présure. Pour les mêmes proportions, le chlorure de magnésium agit en sens inverse, et se comporte de la même façon qu'avec la présure.

Le chlorure de calcium, à de faibles doses, agit très énergiquement sur la sucrase pour la paralyser, et son action va en augmentant avec sa proportion. C'est absolument l'inverse de ce qui se produisait avec les mêmes doses pour la présure.

En revanche, le chlorure de baryum se comporte de la même façon avec les deux diastases et en active l'action, lorsqu'il est en proportions inférieures à $\frac{5}{100}$.

On voit de plus, que dans aucun cas, l'action n'est absolument arrêtée, et que nous n'observons que des retards. C'est une remarque que nous verrons être très générale.

Action des acides. — Tous les acides activent l'effet de la sucrase. Cela est vrai non seulement pour ceux qui agissent eux-mêmes sur le sucre et peuvent ajouter leur effet à celui de la diastase, mais aussi pour les acides très

faibles qui, isolés, sont sans action. Cette influence accélératrice d'une substance inerte par elle-même est tout à fait analogue à celle que les acides exercent sur les propriétés de la pepsine. En voici quelques exemples, pour lesquels le mode d'évaluation est le même que plus haut, et où l'on n'a fait entrer que des acides organiques de forces très diverses. Les proportions indiquées sont des $\frac{1}{100\,000}$:

Acides.	Proportions.	Rapports.
Acide oxalique.	72	0,22
— —	144	0,25
— acétique.	100	0,55
— tartrique.	100	0,40
— —	200	0,40
— salicylique.	12	0,66
— —	25	0,62

On voit que l'effet varie peu, pour chaque acide, avec la proportion employée. L'action spécifique de l'acide disparaît donc en grande partie derrière le caractère prédominant de l'acidité. Les sels acides, tels que le sulfate de zinc, le sulfate de cuivre, se comportent de même. L'influence de la base disparaît derrière l'effet de l'acide. Nous allons trouver tout à l'heure des effets d'ordre inverse pour les sels alcalins.

Remarquons, avant de quitter ce sujet, que l'acide salicylique, qui est un paralysant de beaucoup de diastases, active l'action de la sucrase. Il doit sans doute cet effet à son caractère acide très nettement accusé. L'acide phénique, très peu acide, est en même temps à peu près sans action. L'acide borique, très peu acide aussi, se comporte comme l'acide phénique. Nous pouvons déjà prévoir qu'il n'y a rien de général dans l'action des substances qu'on décore du nom d'*antiseptiques*.

Action des bases et des sels à réaction alcaline. — Les bases exercent un effet retardateur très puissant sur les effets de la sucrase, comme sur ceux de la présure. Avec $\frac{1}{1\,000}$ de soude, l'action de la sucrase devient 25 fois plus faible, et ici encore la nature de la base semble effacée par l'effet de son caractère chimique.

On peut, par suite, s'attendre à voir les sels alcalins exercer aussi un effet retardateur. Voici, pour représenter l'action de quelques-uns d'entre eux, choisis pour leurs propriétés antiseptiques, des chiffres déterminés par le même moyen que pour ceux que nous avons déjà rencontrés :

Proportions en cent millièmes. . .	100	200	400	500	800
Arseniate de soude.	4,0	»	»	7,2	»
Borate de soude.	1,4	2,5	5,6	»	9,3
Salicylate de soude.	»	1,0	1,3	»	»

On voit que les deux premiers sels sont des paralysants très actifs de la sucrase; le dernier, considéré comme le plus antiseptique des trois, est au con

traire à peu près sans action. Dans tous les cas l'effet est retardateur, à cause de la prédominance de l'alcalinité de la liqueur.

Cette question de l'alcalinité doit toujours préoccuper quand on étudie les effets de la sucrase. On comprend maintenant pourquoi nous avons dit qu'il fallait la prendre aussi débarrassée que possible de sels. Nous n'aurions pas découvert sa sensibilité vis-à-vis du chlorure de calcium, si nous l'avions prise en dissolution avec des sels de chaux. Ceux de l'eau ordinaire suffisent en effet à paralyser son action. Lorsqu'au lieu de dissoudre la sucrase dans de l'eau distillée, je la dissolvais dans de l'eau ordinaire de Paris, renfermant du bicarbonate de chaux, sa force en était diminuée.

Cette diminution est sans doute due elle-même à une influence complexe, d'abord à l'effet de la base agissant comme base, puis à ce que le liquide basique, restant exposé quelques heures à l'action de la chaleur, s'oxyde ou plutôt laisse sa diastase s'oxyder plus rapidement que si elle était en solution acide. Cette oxydation de la sucrase se traduit aux yeux par un phénomène apparent. Quand on dissout la diastase dans de l'eau distillée sucrée, le liquide reste limpide pendant sa transformation. Quand on prend de l'eau ordinaire, il se produit un trouble au bout de quelques minutes, et le liquide brunit ensuite très sensiblement à l'œil. Quand on voit ce brunissement, on peut être sûr que la diastase s'est oxydée et est en grande partie détruite.

Action des divers agents antiseptiques. — Nous envisagerons en dernier lieu quelques substances qui ont été proposées pour leur action antiseptique.

Voici d'abord trois sels minéraux toxiques, dont l'action est évaluée de même que plus haut :

Proportions de sels en cent millièmes.	10	20	40	100	200
Bichlorure de mercure.	»	1,03	1,04	1,25	1,40
Nitrate d'argent.	1,26	1,30	1,25	0,70	»
Cyanure de potassium.	»	16,20	44,00	62,00	»

Le bichlorure de mercure agit faiblement sur l'effet de la sucrase. Le nitrate d'argent le retarde d'abord, l'accélère ensuite, probablement par suite de l'acidité qu'il communique à la liqueur. Mais le cyanure de potassium est un paralysant très puissant, agissant à la dose de $\frac{1}{10\,000}$ et très actif à dose de $\frac{1}{1\,000}$. On voit pourtant que, quelle que soit sa puissance, il ne supprime jamais complètement l'action de la sucrase.

Voici maintenant les résultats de l'étude d'un certain nombre de substances organiques.

Le sulfate de quinine est un paralysant de la sucrase. Son effet est représenté par le nombre 1,1 pour une proportion de $\frac{15}{100\,000}$, et par le chiffre de 3,3 pour une proportion de $\frac{30}{100\,000}$. Il exerce donc un effet sensible, même à dose homœopathique.

L'alcool, à 10 p. 100, exerce aussi un effet retardateur mesuré par le chiffre 1,3. Quant au chloroforme, à l'éther, et aux essences de Wintergreen, de girofle, de vespetro, de tanaisie et de cannelle, que j'ai étudiées en les mettant en excès dans les liqueurs, de façon à ce que tout ne se dissolve pas, leur action est faible, et ne diminue que de un dixième environ l'activité de la sucrase.

III. — Amylase

Les études faites sur l'amylase sont encore très incomplètes. J'ai constaté que le chlorure de calcium à $\frac{1}{100}$ diminue de moitié l'activité de la diastase, que le bichlorure de mercure à $\frac{1}{1\,000}$ la rend très faible, et se montre, par suite, doué d'une puissance bien plus grande sur l'amylase que sur la sucrase.

M. Kjeldahl a constaté, d'un autre côté, que les acides favorisent l'action de l'amylase, lorsqu'ils sont en petite quantité, la retardent lorsqu'ils sont en quantité plus grande. L'acide sulfurique accélère l'action jusqu'à la dose de 25 millionnièmes, et l'arrête presque complètement pour une proportion de $\frac{1}{10\,000}$. A cette dose, il active encore notablement les effets de la sucrase.

Enfin M. Kjeldahl a trouvé que le phénol n'a pas d'action bien marquée, non plus que les alcaloïdes végétaux, et en particulier la strychnine.

IV. — Pepsine

L'action des diverses substances sur la pepsine a surtout été étudiée par M. A. Petit. Les digestions artificielles ont été faites par le procédé décrit, p. 171, avec les mêmes quantités de pepsine et de fibrine, additionnées dans un cas, dans l'autre non, de l'élément dont il s'agissait d'étudier l'action.

Action des bases. — En présence de l'ammoniaque, du carbonate de soude, et en général des substances alcalines, l'action de la pepsine est nulle.

Action des acides. — Les doses d'acide chlorhydrique les plus favorables à la peptonisation, d'après M. A. Petit, sont de 1 à 3 millièmes pour l'albumine, de 2 à 5 millièmes pour la fibrine; mais nous avons vu plus haut que cette différence était relative aux conditions dans lesquelles il opérait, et ne devait pas avoir de caractère général. En moyenne, M. Petit prend un millième et demi pour la digestion de l'albumine et 3 millièmes pour la fibrine. C'est à cette dernière que se rapportent les essais faits sur l'action des autres acides. Nous allons les résumer en donnant pour chacun d'eux les proportions pour lesquelles l'effet produit est maximum.

Acide sulfurique	De 5 à 10 millièmes.
— bromhydrique	*Id.*
— phosphorique médicinal $PhO^5, 3HO$	*Id.*
— phosphorique vitreux	Aucun effet de 5 à 60 millièmes. Résultat curieux.
— acétique	Aucun effet de 2,5 à 40 millièmes.
— butyrique	*Id.* *id.*
— valérianique	*Id.* *id.*
— formique	Effet maximum pour 10 millièmes.
— oxalique	— de 20 à 40 millièmes.
— lactique	— pour 20 millièmes.
— tartrique	— de 10 à 40 millièmes.
— citrique	— de 20 à 40 millièmes, action faible.
— malique	— *id.* *id.*
— succinique	Aucun effet de 10 à 40 millièmes.

On voit que l'acide chlorhydrique du suc gastrique peut être remplacé par des acides très divers, mais qu'il est néanmoins un des plus actifs, sinon le plus actif. Remarquons pourtant que ces recherches ne disent probablement pas le dernier mot sur la question. M. A. Petit semble avoir négligé l'influence du temps, ou du moins ne dit pas s'il en a tenu compte, et il resterait à savoir si les substances marquées comme inactives ou peu actives n'arriveraient pas à produire leur plein effet, si on leur donnait le temps nécessaire pour cela.

Action des sels. — M. A. Petit s'est proposé ensuite d'étudier l'influence de divers sels sur une digestion peptique, accomplie, en présence de 3 millièmes d'acide chlorhydrique et de 5 centigrammes de pepsine, sur une dose de fibrine très inférieure à celle que cette quantité de pepsine aurait pu dissoudre. Le tableau suivant résume les résultats obtenus. On a séparé autant que possible les doses qui restent sans action, de celles qui retardent l'action et de celles qui l'entravent complètement, pendant le temps consacré aux expériences.

	Doses inactives.	Doses qui retardent.	Doses qui arrêtent.
	millièmes.	millièmes.	millièmes.
Chlorure de sodium	10 à 80	»	160
Bromure de potassium	10 à 80	»	»
Iodure de potassium	10 à 80	»	»
Prussiate jaune de potasse	10 à 40	»	»
Sulfate de magnésie	10 à 160	»	»
Chlorhydrate d'ammoniaque	10 à 40	»	»
Sulfate de cuivre	10 à 40	»	»
— de zinc	10 à 40	»	»
Acétate de soude	»	4	8 à 40
Phosphate de soude	4	10	20
Tartrate de potasse et de soude	10	20	40
Salicylate de soude	»	4	8
Émétique	2	4	8
Bichlorure de mercure	2 à 4	8 à 12	16 à 20
Protochlorure de fer	2 à 40	»	»
Sulfate de fer	2 à 20	»	»
Lactate de fer	2	»	»
Tartrate de fer et de potasse	2	4	10 à 20

On voit que le chlorure de sodium diminue un peu les effets de la pepsine. Les doses qui produisent cet effet doivent être d'autant plus grandes que la dose de pepsine est plus grande, résultat qui s'observe, d'ailleurs, aussi pour les autres sels, mais l'effet retardateur du chlorure de sodium semble certain. D'autres sels agissent comme lui. Pourtant l'effet de quelques-uns de ceux qui sont portés au tableau précédent tient peut-être à ce que l'acide chlorhydrique, en saturant leur base, met en liberté un acide moins énergique que lui.

On remarquera la faiblesse de l'action produite par le bichlorure de mercure, qui est si puissant dans d'autres cas. Les sels de plomb et d'argent semblent se comporter comme lui.

A la suite de ces corps, M. A. Petit en a étudié d'autres très divers, dont on peut résumer l'action de la façon suivante :

Le sulfate d'atropine, le chlorhydrate de morphine, le nitrate de pilocarpine, le sulfate de quinine, le sulfate de strychnine, à des doses supérieures aux doses médicinales, sont sans action sur la digestion peptique. Il en est de même des essences de térébenthine, d'anis, de bergamote, de lavande, à des doses de 200 à 800 gouttes par litre.

L'essence d'amandes amères, l'éther, la benzine sont sans action à la dose de 20 gouttes par litre ; à la dose de 40 gouttes, ces liquides paralysent l'effet de la pepsine, et l'arrêtent presque à 80. Le sulfure de carbone agit dans le même sens avec une puissance plus grande encore.

Le brome, à 20 ou 40 gouttes par litre, arrête complètement l'effet ; l'iode est moins actif. Ceci nous conduit aux antiseptiques, dont on peut résumer les effets dans le tableau suivant, construit comme celui de plus haut :

	Doses inactives.	Doses qui retardent.	Doses qui arrêtent.
	millièmes.	millièmes.	millièmes.
Acide sulfureux	2 à 5	8 à 10	»
— borique	10 à 20	»	»
— arsénieux	5 à 20	»	»
— phénique	»	20 à 100	»
— salicylique	0,5	1 à 2	»
— gallotannique	»	0,5 à 4	»
— benzoïque	2	4 à 20	»
Chloral	»	10 à 100	»

On remarquera l'inefficacité de l'acide borique et de l'acide arsénieux. En revanche, les paralysants de la pepsine sont le brome et l'iode, sans doute par un phénomène d'oxydation, le chloral, l'acide salicylique, l'acide gallotannique, et à un moindre degré, l'acide benzoïque et le phénol.

Résumé des faits qui précèdent. — En essayant de résumer les notions que nous venons d'acquérir, nous allons arriver à des conclusions qui nous seront utiles plus tard, lorsque nous aurons à nous occuper de la question des antiseptiques.

D'après ce que nous venons de voir, certaines substances peuvent posséder cette propriété, et préserver plus ou moins longtemps de l'altération les liquides

organiques où on les introduit, uniquement parce qu'elles paralysent l'action des diastases. On doit penser, *a priori*, que tous les antiseptiques ne sont pas dans ce cas, et qu'à côté des substances qui agissent surtout sur les diastases, il y en a qui empêchent surtout le développement des cellules-ferments, et d'autres qui s'adressent à la fois aux ferments et aux diastases. Nous verrons plus tard que l'expérience confirme cette notion.

Nous nous bornons pour le moment aux paralysants des diastases, et voici le tableau résumé de leur action sur celles que nous connaissons le mieux, d'après mes expériences et celles de M. A. Petit. Le tableau ne s'applique qu'à des doses variant de $\frac{1}{25\,000}$ à $\frac{1}{100}$, celles des essais précédents. Le signe — signifie que la substance retarde, le signe + qu'elle active les effets de la diastase, le signe — + signifie qu'après avoir retardé pour les doses les plus faibles, elle active pour les doses les plus élevées du tableau. Le signe 0, indique que la substance est sans action.

	Présure.	Sucrase.	Amylase.	Pepsine.
Sulfate de potasse	—	— +	»	»
Chlorure de potassium	+ —	+ —	»	»
Sulfate de soude	—	— +	»	»
Chlorure de sodium	—	+ —	»	0
Chlorhydrate d'ammoniaque	—	»	»	0
Sulfate de magnésie	+ —	— +	»	0
Chlorure de magnésium	+ —	— +	»	»
Chlorure de calcium	+ —	—	—	»
Chlorure de baryum	+ —	+	»	»
Acides en général	+	+	—	+
Bases en général	—	—	»	—
Acide borique	+	0	»	0
Acide salicylique	+	+	»	—
Acide phénique	»	»	0	—
Borate de soude	—	—	»	—
Salicylate de soude	—	—	»	—
Cyanure de potassium	—	—	»	»
Sulfate de zinc	»	+	»	0
Sulfate de cuivre	»	+	»	0
Bichlorure de mercure	—	—	—	—
Nitrate d'argent	—	—	»	»
Sulfate de quinine	»	—	»	0
Alcool	»	—	»	»
Essences diverses	»	—	»	0
Strychnine	»	»	0	0

Ce tableau ne donne pas le *quantum* de l'action, mais il en donne le sens. On y voit d'abord que toutes les substances employées n'agissent pas de même sur toutes les diastases : que le chlorure de calcium, par exemple, qui active les effets de la présure à des doses infinitésimales, retarde au contraire les effets de la sucrase et de l'amylase; que l'acide salicylique, si actif contre la pepsine, favorise au contraire l'action de la présure et de la sucrase. Chaque diastase a donc ses paralysants spéciaux.

De plus, dans aucun cas, nous n'avons vu ces paralysants, même les plus actifs, supprimer complètement les effets de la diastase. Ils n'arrivent tous qu'à les retarder. Cela ne veut pas dire qu'ils ne peuvent pas être, à l'occasion, des antiseptiques excellents. Si en effet la diastase active est en proportions très faibles, et si elle est empêchée d'agir dans les premiers moments, elle pourra disparaître dans l'intervalle par suite d'un phénomène d'oxydation.

Cette intervention des propriétés de la diastase dans la question des antiseptiques se manifeste dans un autre cas. Une même substance, employée en mêmes proportions, pourra être un antiseptique parfait à une certaine température, par le jeu du mécanisme que nous venons d'indiquer, et ne l'être plus à une température plus élevée, où l'action de la diastase sera plus rapide.

Ceci nous indique quelques-unes des difficultés de l'étude des antiseptiques. Elle se compliquerait encore si nous y faisions intervenir les ferments. Telle substance pourrait, par exemple, être un antiseptique pour les solutions de sucre, parce qu'elle en empêcherait la transformation en glucose, seul nutritif pour les ferments, et se montrer absolument inerte sur une dissolution de glucose au même titre. Avec une même matière organique, un antiseptique, employé dans les mêmes proportions, pourra garantir contre de certains ferments, et pas contre d'autres. Bref, on voit que lorsque, comme on le fait d'ordinaire, on se contente, pour étudier l'action d'un antiseptique, de l'introduire dans un liquide organique, et d'observer les effets qui se produisent avec le temps, on n'a qu'un effet contingent, variable suivant une foule d'influences, quelque chose de très différent d'une notion scientifique. Il y a sur ce sujet toute une étude à faire, sur laquelle on n'a encore que des connaissances que l'on ne peut même pas qualifier d'empiriques, tant elles sont grossières et contradictoires.

BIBLIOGRAPHIE

DUCLAUX. — Mémoire sur le lait. *Ann. de l'Institut agronomique,* 1882.
KJELDAHL. — *Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet.* Copenhague, 1879.
A. PETIT. — *Recherches sur la pepsine.* Paris, 1880.

CHAPITRE XIV

SÉCRÉTION DES DIASTASES

Les notions que nous venons d'acquérir nous permettent maintenant d'aborder l'étude des conditions de sécrétion des diastases. C'est un sujet encore obscur, sur lequel n'existent que des renseignements épars, que j'ai essayé de réunir et de compléter. Mais il est trop important pour que nous puissions le passer sous silence.

Les diastases dont nous voulons étudier la production ne peuvent pas, comme nous l'avons vu, être isolées, et ne nous sont pas connues par elles-mêmes. Elles ne se manifestent à nous que par les transformations qu'elles produisent, et nous avons vu que leur quantité pouvait être appréciée approximativement par la quantité de ces transformations. Mais nous avons vu d'un autre côté que la quantité d'action exercée par une diastase est une fonction très compliquée des circonstances au milieu desquelles elle agit. Il ne sera donc pas inutile d'envisager les faits résultant des chapitres précédents au point de vue des précautions à prendre, quand on veut faire produire à une diastase quelconque son maximum d'effet.

Formule de l'action des diastases. — Si on appelle d la quantité d'une diastase quelconque présente dans un liquide, t le temps pendant lequel elle a agi, q la quantité produite de la substance qui traduit l'action de la diastase, nous savons que la relation qui lie ces trois quantités est de la forme

$$q = \mathrm{A}.d.t.$$

qui exprime que l'action d'une diastase est proportionnelle à la quantité présente, et au temps pendant lequel elle a agi; qui exprime aussi que pour une quantité déterminée d'action produite, les temps sont en raison inverse des quantités de diastases. C'est une relation qui se vérifie, comme nous l'avons vu, pour des valeurs très différentes de d et de t dans le cas de la présure, mais qui, dans le cas de la sucrase et surtout de l'amylase, n'est vraie que pour le commencement de l'action.

Remarquons tout de suite, comme un fait conforme à l'explication que nous avons donnée de cette particularité, que la diastase pour laquelle la loi se vérifie

le mieux est précisément celle pour laquelle la matière qu'elle a transformée a pris la forme insoluble, et ne peut exercer par suite l'action retardatrice de ses congénères qui restent liquides. Remarquons en outre que ces différences de degré, dans l'application de la loi, n'entraînent pas de distinction sérieuse entre les diastases. Pour la présure comme pour les autres, il vient un moment où, la loi ne s'appliquant plus, un excès de diastase ne produit plus d'effet nouveau, parce que le temps de la transformation ne peut pas décroître au delà d'une certaine limite, et où une trop petite quantité de présure reste aussi sans action, masquée par les substances présentes en même temps qu'elle, ou détruite par des phénomènes d'oxydation.

Au point de vue pratique, lorsqu'il s'agira de la recherche de très petites quantités de diastase, on pourra toujours admettre que la loi sus-énoncée se vérifie, et on devra exagérer l'action du temps avant de conclure qu'une diastase est définitivement absente. Quand, à raison des conditions de l'opération, on aura à craindre l'invasion des ferments, il faudra se servir des filtres poreux que nous avons décrits page 90, et que nous avons déjà employés à un pareil usage.

L'étude de la constante A va nous conduire à un autre ordre de précautions. Cette quantité A est évidemment fonction de la température, et passe, comme nous l'avons vu, par un maximum à un degré thermométrique différent pour chaque diastase. On devra naturellement se mettre toujours à la température du maximum d'action.

Mais la quantité A dépend aussi de la constitution chimique du milieu dans lequel agit la diastase, et qui tantôt en contrarie, tantôt en accélère l'action. Dans cet ordre de phénomènes, le rôle principal appartient à la réaction acide, neutre ou alcaline, du liquide. La pepsine n'agit pas lorsque le liquide est neutre ou alcalin; l'amylase ne fonctionne pas au contraire en liquide un peu acide. Pour la sucrase, il sera toujours prudent d'opérer en liquide très peu acidulé par un acide organique, pour profiter de l'action accélérante qui en résulte pour l'action de la diastase.

Les substances neutres présentes dans le liquide peuvent aussi jouer un rôle. Les notions que nous avons maintenant sur leur action nous permettront, à propos de chaque diastase, soit de nous mettre en garde contre elles, soit de les appeler à notre secours pour nous aider à découvrir des quantités de diastase trop faibles pour qu'elles puissent agir. Ainsi un peu de chlorure de calcium accélèrera, comme nous l'avons vu, les effets de la présure.

A côté de ces renseignements généraux, il en est de particulier à chaque diastase.

Pour rechercher la sucrase, il faudra mettre le liquide étudié en contact avec une solution récente de sucre candi, pendant 15 ou 20 heures, à une température de 50 à 60°. Il n'y a pas à craindre dans ces conditions le développement des ferments, et on peut se dispenser de l'emploi du filtre poreux. Quelquefois, au bout de ce temps, on trouve que la liqueur de Fehling n'est pas réduite franchement, et donne seulement un précipité grisâtre ou gris verdâtre. On peut être sûr alors qu'en attendant plus longtemps, on aurait obtenu le précipité rouge caractéristique, et qu'il y a de la sucrase dans le liquide étudié,

mais en faibles quantités. La teinte verte du précipité tient à ce que ce précipité, très peu abondant, est jaunâtre, et paraît vert lorsqu'il est noyé dans un liquide bleu. C'est en devenant plus abondant, sous l'action continuée de la diastase, qu'il reprend ses caractères ordinaires.

Pour l'amylase, il faut quelques précautions de plus. Il faut se servir d'amidon cuit à la plus basse température possible, de façon à ce que, chauffé seul avec la liqueur de Fehling, il n'amène pas de réduction, même au bout d'une minute ou deux d'ébullition. Pour plus de sûreté, il est toujours bon d'opérer par comparaison, avec des doses égales de liquide amylacé, étendues d'eau dans un cas, dans l'autre, d'une quantité égale de liquide diastasifère.

Il faudra opérer vers 50 ou 55°, de façon à exagérer la production du maltose. La réaction sur l'amidon est toujours plus lente que l'interversion du sucre et on devra lui laisser plus de temps pour s'accomplir. Le précipité verdâtre sera plus fréquent, naturellement, qu'avec le sucre, et devra être interprété de la même façon. Il faut renoncer d'une façon absolue à l'emploi de l'iode, qui ne donne une indication que lorsque l'action est complète, tandis qu'elle sera fréquemment ébauchée dans notre étude. De plus, le liquide chargé de diastase peut quelquefois, par sa nature propre, retarder ou masquer la fixation de l'iode sur l'amidon, et faire croire à la présence d'une diastase lorsqu'il n'y en a réellement pas. En faisant, par exemple, agir quelques minutes de la salive sur de l'amidon cuit ou cru, l'iode, employé en petites quantités, ne donne ensuite aucune coloration, et on aurait le droit de croire à la disparition de l'amidon, lorsque cette substance est encore reconnaissable au microscope.

Pour la présure, comme l'invasion par les ferments du lait qui lui sert de réactif, serait très facile à 40°, qui est la température du maximum d'action, on devra, dans le cas où elle n'est pas abondante, toujours recourir à l'emploi du filtre poreux.

Encore même, malgré toutes ces précautions, il pourra se faire qu'une diastase soit réellement présente, sans qu'on puisse arriver à la déceler. Il sera donc toujours difficile d'affirmer, d'une façon absolue, que telle ou telle diastase est absente dans les produits de sécrétion de telle ou telle espèce microscopique. Mais on pourra toujours, et c'est évidemment la chose importante, affirmer qu'il n'y en a pas en quantités sensibles, capables de produire leur effet dans un temps donné.

Marche de la sécrétion des diastases. — Nous pouvons maintenant, avec ce que nous savons, aborder une question dont la solution nous sera bientôt utile. Une espèce vivante étant ensemencée dans un milieu qu'elle doit d'abord transformer par l'action d'une diastase, sécrétée pour cela, dans quels rapports sont les phénomènes, nécessairement concomitants, de croissance du ferment et de sécrétion de sa diastase? Le tableau ci-dessous répond à cette question. Il se rapporte à une culture d'une plante, que nous apprendrons bientôt à connaître sous le nom d'*Aspergillus niger*, sur un liquide nutritif renfermant à l'origine 5,87 p. 100 de sucre candi. Il donne à diverses époques l'état de la plante, la proportion du sucre candi encore existante, et la quantité de sucre candi transformée en glucose.

	État initial.	Après 24 heures. Le mycélium recouvre toute la surface du liquide.	Après 48 heures. Mycélium très épais, commencement de fructification.	Apr. 72 heures. La surface noircit.	Apr. 96 heures. Maturité complète.
		—	—	—	—
Sucre candi p. 100. . . .	5,87	4,10	2,10	0,18	»
Sucre interverti.	»	1,46	1,97	0,74	0,10
Total p. 100. . . .	5,87	5,56	4,07	0,92	0,10

On voit que la quantité totale de sucre décroît régulièrement au fur et à mesure que la plante croît, et d'autant plus vite qu'il s'est déjà formé un poids de plante plus considérable pour le consommer. Nous aurons à revenir bientôt sur ce côté du phénomène. Ce qui nous intéresse pour le moment, c'est qu'il y a encore du sucre non interverti, alors même que la consommation de l'aliment est la plus énergique. Il semble que la plante ne sécrète pas assez de diastase pour ses besoins. Si l'on soutire le liquide après 72 heures, et qu'on cherche ce qu'il y a de diastase, en l'additionnant de sucre candi, à l'abri de l'action de la plante, on trouve, en effet, qu'à ce moment il y en a très peu.

Il y en a davantage après 96 heures, et encore plus dans les 2 ou 3 jours qui suivent la maturité parfaite, de sorte que, pour obtenir un liquide très chargé de diastase, c'est à ce moment qu'il faut le soutirer. Mais comme il renferme une quantité assez notable de sels provenant de ceux qu'on a ajoutés au liquide pour fournir à la nourriture minérale de l'aspergillus, il vaut mieux, comme nous l'avons dit plus haut, soutirer le troisième ou le quatrième jour le liquide où a vécu la mucédinée, et le remplacer par de l'eau pure, sur laquelle l'aspergillus continue à vivre en épuisant ses réserves, et qu'il charge de la diastase qu'il sécrète.

A envisager en bloc les phénomènes, tels que nous venons de les décrire, il semble bien que la diastase soit consommée au fur et à mesure de sa production, puisqu'on en trouve d'autant plus dans le liquide qu'il y a moins de sucre à intervertir, et que le maximum correspond au cas où il n'y a plus de sucre. Mais ce maximum correspond aussi au maximum du poids des cellules vivantes, correspond aussi à une période de la vie où la plante a cessé de croître, où elle va se reproduire, et où, comme toutes les plantes vivantes, elle prépare d'avance pour son germe le milieu le plus favorable. Il n'y a, dans la racine de la betterave, de la diastase qu'au moment de la germination. Quelques essais que j'ai faits montrent que son maximum ne coïncide pas du tout avec le maximum de consommation du sucre. Le fait que nous venons de constater pour l'aspergillus n'est donc pas un fait général, et comme les résultats trouvés ont, comme nous l'avons vu, une interprétation différente de celle à laquelle ce fait semble conduire, il ne peut servir à prouver qu'une diastase se consomme réellement au fur et à mesure de sa production. Nous avons combattu cette idée au chapitre précédent, où nous avons reconnu que si une transformation diastasique se ralentit presque indéfiniment, le phénomène est dû, non à l'usure de la diastase, mais à ce que son action est retardée par les produits qu'elle fournit.

Nous allons voir du reste que la sécrétion d'une diastase n'est pas une fonc-

tion physiologique aussi simple qu'on pourrait le croire, lorsqu'on admet qu'il en reste d'autant plus à la fin d'une opération, dans un liquide, qu'il y en a eu moins de consommée pendant la vie de la cellule qui l'a produite. Dans cette idée, il suffit qu'une cellule vive pour en produire, et sa formation est jusqu'à un certain point indépendante de la nature de l'aliment. Nous allons voir qu'il n'en est réellement pas ainsi.

Conditions de production des diastases. — Posons-nous en effet la question suivante, importante par le jour dont elle peut éclairer les phénomènes de digestion.

Soit une cellule pouvant vivre aux dépens de diverses substances qui, comme le sucre candi, l'amidon, la caséine, ont besoin, avant de devenir assimilables, alimentaires, de subir l'action d'une diastase spéciale à chacune d'elles. Cette cellule sécrète-t-elle, d'une façon constante et en quelque sorte nécessaire, toutes les diastases qu'elle a le pouvoir ou l'occasion d'utiliser, ou bien la production de ces diastases est-elle intermittente, subordonnée aux conditions d'alimentation, et liée à la présence de l'aliment qu'il s'agit de digérer? En d'autres termes, cette cellule sécrète-t-elle à la fois toutes ses diastases ou seulement chacune d'elles, au fur et à mesure de ses besoins?

Avec les faits qui existent déjà dans la science, on a le droit de supposer que c'est la première alternative qui est vraie. Les seules cellules à aliments multiples dont on connaisse un peu l'action sont celles du canal digestif, et nous voyons précisément celles de la muqueuse stomacale, celles du pancréas posséder toujours des propriétés fonctionnelles identiques en apparence, indépendantes du mode de nutrition de l'organisme.

Il ne faut pourtant pas se hâter de conclure. D'autres faits, peu nombreux encore, mais assez significatifs, s'ils ne sont pas le résultat d'erreurs trop faciles en pareil sujet, semblent prouver que la sécrétion d'une diastase par une cellule n'est pas aussi indépendante qu'on pourrait le croire de la nature de l'aliment. Le plus significatif résulte des observations de Darwin sur les plantes carnivores.

En plaçant sur des feuilles de *Drosera* de petits éclats de verre, les tentacules dont la feuille est munie se recourbent comme si le verre était un aliment, et déposent sur lui une certaine quantité de liquide acide qu'on pourra recueillir, et dont on pourra essayer les qualités digestives en y introduisant de petits cubes d'albumine cuite. Aucun de ces cubes ne sera attaqué. On voit au contraire leurs angles et leurs arêtes s'émousser et disparaître, lorsque la sécrétion a été provoquée par le contact, avec la feuille, d'un peu d'albumine mêlée de salive. Ces faits prouvent qu'il manque au liquide sécrété dans le premier cas quelque chose qu'il possède dans le second, et Darwin pense que ce ne peut être que la diastase, que la plante ne sécréterait qu'à la condition d'avoir absorbé par ses feuilles ou ses tentacules un peu de matière azotée servant de stimulant. Il faut rapprocher de ce fait ces autres faits, plus douteux parce qu'ils sont plus difficiles à observer, mais dont l'interprétation est en revanche plus directe et plus voisine du phénomène constaté, du maximum de sécrétion diastasique d'un organe,

coïncidant avec une digestion commencée et déjà en train, de l'activité des glandes gastriques surexcitée par le contact du bouillon, etc.

Malheureusement, tous les faits qu'on pourrait rassembler dans le même ordre d'idées sont peu concluants, parce que leur observation est difficile, sujette à erreur, et aussi parce qu'ils se produisent sur des cellules qui sont certainement, de toutes les cellules vivantes, celles qui sont les moins sensibles aux changements d'alimentation.

En réalité, toutes les cellules de l'appareil digestif se nourrissent aux dépens d'un milieu intérieur qui est à peu près toujours le même, et ne subit que faiblement le contre-coup des changements dans l'alimentation. C'est précisément un des privilèges des animaux supérieurs que leur alimentation profonde, si l'on peut s'exprimer ainsi, peut être, dans d'assez larges limites, indépendante de l'alimentation extérieure, et si l'on veut pouvoir confondre ces deux alimentations et devenir maître de l'une en devenant maître de l'autre, il faut s'adresser aux cellules des infiniment petits.

Malheureusement, et par une conséquence en quelque sorte nécessaire, celles-ci sont en général très exclusives dans leurs besoins nutritifs, et chacune d'elles ne s'accommode guère que d'un aliment déterminé. Elles se prêtent donc malaisément à la solution de la question que nous nous sommes posée. Ce n'est guère qu'avec les mucédinées, qui, étant surtout des agents de combustion, peuvent vivre de substances très variées, qu'on peut essayer de voir si la production des diastases varie avec le mode d'alimentation.

Toutefois, avec elles, il y a une dernière difficulté à résoudre, c'est qu'elles sont en général de très médiocres producteurs de diastases. Il faudra donc, pour découvrir celles-ci, prendre toutes les précautions détaillées plus haut.

Diastases de l'Aspergillus glaucus. — Le végétal que j'ai appelé de ce nom est caractérisé comme un *aspergillus* par le capitule terminal du filament sporifère, capitule qui est sphérique, et couronné sur sa calotte supérieure par un bouquet de stérigmates régulièrement rangés, dont chacun porte une file de spores. Ces files sont collées ou au moins serrées les unes contre les autres, et, au lieu de former un panache, constituent une sorte de plumet ou de pinceau à l'extrémité du filament. Le renflement terminal a 20μ de diamètre, les stérigmates 10μ de longueur, le filament sporifère 6μ, les spores environ 2μ. Le mycélium, cloisonné et rameux, est moins large que le filament sporifère. Il commence à pousser sous la forme de longs tubes granuleux. Puis on y voit apparaître des renflements en hernie qui s'allongent, sortent du liquide, se renflent à l'extrémité et finissent par constituer le filament fertile.

Cet aspergillus peut pousser sur des substrata très divers. Ensemençons-le d'abord sur un liquide qui puisse le nourrir sans qu'il soit pour cela besoin de l'intervention d'aucune diastase. Telle est par exemple une dissolution de lactate de chaux, additionnée de sels minéraux. L'aspergillus y donne un mycélium très épais, surmonté d'une couche sporifère dont la teinte tire sur le noir. Ce mycélium est comme feutré de cristaux d'oxalate de chaux, en très beaux octaèdres, et de carbonate de chaux en masses feuilletées. Ce sont les seuls produits de transformation du lactate, qui est, comme l'on voit, brûlé, avec formation d'oxa-

late de chaux comme produit intermédiaire, protégé contre une oxydation plus complète par son état de sel et son insolubilité.

Si l'on n'a dissous dans le liquide que du lactate de chaux, un sel d'ammoniaque comme unique aliment azoté, et des sels minéraux, on trouve que l'aspergillus ne sécrète ni présure, ni caséase, ni sucrase. Il ne contient que de l'amylase.

Faisons vivre maintenant l'aspergillus sur du sucre, où il pousse aussi très bien, où il conserve sa couleur verdâtre et donne encore, surtout à l'origine, des cristaux d'oxalate de chaux. Nous trouverons alors de la sucrase et pas d'amylase. C'est l'inverse de ce que nous avons trouvé tout à l'heure. Il ne se forme ni présure ni caséase.

Ces deux dernières diastases, absentes jusqu'ici, eont au contraire apparaître lorsque l'aspergillus poussera sur du lait, où il se forme un feutrage mycélien très serré et surchargé de filaments fertiles. Le premier effet de sa végétation est une coagulation du lait, si la température est voisine de 25°. Puis le liquide se décolore, devient transparent et un peu visqueux, comme une solution de gélatine. La couleur de l'aspergillus se fonce et devient souvent noirâtre, mais les caractères essentiels persistent.

La coagulation du lait et la redissolution du précipité montrent qu'il y a ici une présure et une caséase qui, avec les mucédinées, est plus abondante que la présure et peut en masquer l'effet, surtout si la température est basse, en transformant la caséine en une substance incoagulable, avant que la présure n'ait pu agir. Mais, même dans ce cas, si l'on regarde de près ce qui se passe, on voit toujours se former dans les commencements un coagulum plus ou moins mou et gélatineux.

Quant au sucre de lait, il n'est pas attaqué, au moins à l'origine. Pourtant, ce que nous allons voir au sujet du Pénicillium glaucum prouve qu'il peut l'être avec le temps, lorsque l'aliment albuminoïde est en entier transformé.

Diastases du Pénicillium glaucum. — Ce végétal a en effet une activité plus grande que l'aspergillus glaucus. Mais si les transformations qu'il amène demandent en général moins de temps, elles sont du même ordre que celles que nous venons de rencontrer, ainsi que nous allons le voir.

Sur le lactate de chaux, la mucédinée pousse très bien, donne un mycélium très cloisonné et très rameux, tellement feutré de gros cristaux d'oxalate et de carbonate de chaux qu'on ne peut l'étaler en couches minces pour l'observer au microscope. Les filaments sporifères sont bien cloisonnés et très rameux. Les rameaux latéraux sont terminés par un bouquet de stérigmates, au nombre de quatre ou cinq, portant des files de spores. Le filament principal se ramifie aussi beaucoup à son extrémité, et donne comme un bouquet de rameaux, dont chacun se charge de stérigmates portant des files ondoyantes de spores. Ces spores sont plus grosses que celles de l'aspergillus, car elles mesurent environ 3^{μ}. L'épaisseur du filament sporifère est un peu moindre que 3^{μ}. La différence est donc grande avec l'aspergillus étudié plus haut.

Au point de vue des diastases, les effets produits sont pourtant du même ordre, sinon identiques, avec les deux mucédinées. Le pénicillium glaucum ne

donne avec le lactate de chaux ni présure, ni caséase. Il ne donne pas non plus d'amylase, mais il fournit une sucrase très active. Pour ces deux dernières diastases, c'est l'inverse de ce que nous avons vu avec l'aspergillus, et cela prouve que la nature de l'aliment n'est pas seule à jouer un rôle, et que la nature de la cellule vivante intervient aussi dans la production de ses moyens de nutrition.

Avec le sucre, on retrouve naturellement la sucrase; mais, bien que la végétation soit très florissante, on ne voit apparaître ni la présure ni la caséase.

Avec la glycérine, en présence du carbonate de chaux et d'un aliment minéral et azoté, on retrouve, comme produits de la combustion exercée par la mucédinée, de l'oxalate et du carbonate de chaux. La sucrase, toujours présente, s'accompagne d'une faible quantité d'amylase, mais on ne voit pas apparaître la présure et la caséase.

Mêmes résultats avec le bouillon Liebig et l'amidon, qui donnent encore tous deux de l'oxalate de chaux.

Mais avec le lait, où le pénicillium pousse très bien, on voit le liquide se coaguler, puis le coagulum se redissoudre très régulièrement par couches horizontales à partir de la surface. L'aspect des matras où on fait la culture ressemble tout à fait, à un certain moment, à celui du fromage de Brie ou du camembert en voie de maturation. A la surface, une couche de végétations microscopiques. Au-dessous, une couche jaunâtre provenant du caséum redissous et transformé. Au-dessous encore, la couche blanche de caséum inaltéré.

Encore ici, la caséase l'emporte sur la présure. Le coagulum qu'on obtient en mélangeant à du lait le liquide où a vécu le pénicillium n'est jamais ferme, comme il l'est avec la présure de veau; il est toujours comme gélatinisé et à demi-dissous par la caséase.

Le caséum du lait est le premier attaqué, avec formation d'oxalate de chaux, et en arrêtant l'action à temps, on peut trouver le sucre de lait encore inaltéré, mais il ne tarde pas à être transformé à son tour. On en est averti en ce que le liquide, neutre ou même alcalin tant que la caséine est seule atteinte, parce que l'ammoniaque produite est en quantité suffisante pour sursaturer les acides formés, devient acide lorsque le sucre est attaqué. J'ai trouvé qu'il se forme dans ces conditions de l'acide oxalique, qui est brûlé à son tour à la fin. Il n'en reste que la portion qui a pu se transformer en oxalate d'ammoniaque, de sorte que le dernier résidu de l'action est une solution de ce sel, à peine souillée par quelques traces de matière organique azotée.

On voit en résumé que, chez ces espèces microscopiques, la production des diastases est en rapport avec le mode d'alimentation. C'est là le point fondamental de la question que nous avons essayé de résoudre.

Si nous passons aux détails, nous voyons d'abord, en nous bornant aux aliments hydrocarbonés, que, même lorsque la mucédinée se nourrit d'une matière dont l'assimilation n'exige pas l'emploi d'une diastase, elle ne sécrète pas pour cela toutes celles qu'elle est capable de sécréter; c'est tantôt la sucrase, tantôt l'amylase qui apparaît dans ces conditions.

Quand l'aliment a besoin de l'action d'une des diastases que le végétal peut sécréter, cette diastase apparaît tout naturellement, quelquefois seule, quelquefois accompagnée d'une autre, mais dans aucun cas nous n'avons vu, avec les

aliments hydrocarbonés, apparaître les diastases de la caséine; nous ne les avons même pas fait naître avec le bouillon Liebig, où l'aliment assimilable est pourtant azoté.

Il est bien entendu que ce mot, absence de diastase, n'a rien d'absolu. Ainsi que je l'ai dit plus haut, rien n'est plus difficile que d'affirmer un fait de cette nature. Mais ce qu'on peut dire, c'est que les diverses diastases que peut sécréter un seul et même être, le sont en proportions toujours très diverses, suivant le mode d'alimentation et que, pratiquement, quelques-unes d'entre elles peuvent être considérées comme absentes.

Il n'est donc pas possible d'admettre, comme on l'a fait quelquefois, que, lorsqu'on fait vivre dans un liquide nutritif une cellule diastasigène, on doit retrouver dans ce liquide la ou les diastases, que cette cellule peut sécréter, en quantités d'autant plus grandes qu'il y en aura eu moins de dépensées. Il est des cas où cela est possible, il en est d'autres où le contraire arrivera. En d'autres termes, la production de ces diastases n'est pas une nécessité physiologique, et leur dépense, une question d'alimentation. C'est plutôt leur production qui est une résultante des conditions physiologiques et du mode d'alimentation. Quant à la dépense, elle est elle-même une résultante plus complexe encore. C'est ce que montrent avec une netteté suffisante, et malgré leur caractère encore incomplet, les détails consignés aux chapitres précédents, détails encore inédits pour la plupart, et qui se trouvent pour la première fois réunis ici en corps de doctrine.

Nous venons de passer en revue ce qu'on peut dire de général sur la nutrition des cellules des ferments. Il nous faut maintenant parler de chaque espèce en particulier. Les êtres que nous avons à étudier sont nombreux; leurs besoins sont très divers; l'étude de leur alimentation soulèvera, nous sommes déjà préparés à le comprendre, un problème physiologique toujours délicat et différent d'une espèce à l'autre. C'est dire que nous avons besoin, dans notre étude, de beaucoup d'ordre, de méthode et de clarté. Il n'est pas inutile de dire un mot du plan que nous allons suivre.

Les ferments sont surtout importants, à la fois dans l'industrie et dans le plan général de la création, comme agents de transformation et de destruction de certaines matières organiques azotées et non azotées. Nous trouverons dans la nature de ces matières les éléments des grandes divisions de notre sujet. On exprime brièvement la transformation que subissent ces matières en disant qu'elles fermentent. Nous aurons donc à étudier d'abord les ferments et les fermentations des substances hydrocarbonées, parce que nous serons là dans la partie la mieux connue de la science, puis les ferments et les fermentations des matières azotées, qui, logiquement, occuperont un jour le premier rang, parce que tous les microbes sont des ferments des matières azotées, tandis qu'ils ne peuvent pas tous vivre aux dépens d'aliments hydrocarbonés.

Dans ces deux grandes divisions nous trouverons bien des types divers. Un premier moyen de classification sera de considérer à part toutes les transfor-

mations que peut subir une même substance. Nous étudierons d'abord le sucre comme le mieux connu, puis successivement, sans nous astreindre à un ordre purement chimique, les autres aliments hydrocarbonés.

A propos de chacune de ces substances, nous trouverons encore un grand nombre de modes de destruction ou de fermentation. Pour les classer, nous nous souviendrons que nous avons considéré ces phénomènes comme des procédés par lesquels la matière organique ou organisée fait retour à l'atmosphère et à l'eau, en se transformant en composés gazeux ou solubles. Nous prendrons, par suite, une substance complexe, comme le sucre, et nous rechercherons par quelles voies elle arrive à se transformer en eau et en acide carbonique. Ces voies sont nombreuses. Dans les unes, la gazéification du sucre se fait en plusieurs périodes. Le sucre peut, par exemple, dans la fermentation alcoolique, donner de l'acide carbonique et de l'alcool. Celui-ci, dans la fermentation acétique, donne à son tour de l'eau et de l'acide acétique. Ce dernier acide peut enfin être brûlé complètement par un autre ferment, et donner de l'eau et de l'acide carbonique. Nous examinerons successivement ces diverses fermentations dans l'ordre dans lequel elles se produisent. Quelquefois, la destruction du sucre est plus rapide, et se fait en une seule fois. C'est le cas où on le soumet à l'action des végétations cryptogamiques, telles que les diverses espèces de *penicillium*, de *mucor*, d'*aspergillus*. De même la matière azotée, quand elle subit une transformation ou une fermentation, peut, ou bien être brûlée intégralement du premier coup, ou n'arriver au terme ultime de sa destruction que par une série de stades, de degrés successifs, franchis chacun sous l'influence d'un microbe dont l'action s'arrête et cède le pas à un autre, aussitôt accompli le phénomène auquel il a à présider.

Nous suivrons encore pas à pas ces progrès successifs dans la voie de la décomposition, autant que nous le permettra l'état encore peu avancé de la science sur ce sujet.

Mais cette subordination de l'étude des divers ferments à l'étude des fermentations qu'ils produisent ne sera pour nous qu'un moyen de classement, une manière de nous reconnaître au milieu de l'infinie variété de détails dans lesquels nous avons maintenant à entrer. Nous n'avons plus, comme jusqu'ici, de détails généraux à donner, nous avons à faire une série d'histoires particulières, différentes de l'une à l'autre par le nombre et la nature des éléments qui y jouent un rôle. Tout au plus nous sera-t-il possible, quand nous rencontrerons une famille d'êtres évidemment très voisins par leurs propriétés, comme les levures, d'abréger un peu en résumant tout d'abord leurs traits communs. Pour la grande majorité des microbes, la monographie est encore, dans l'état actuel de la science, la seule chose possible.

Encore cette monographie n'est même pas complète pour tous. D'après ce que nous avons dit plus haut, elle devrait embrasser l'étude de l'aliment complet du microbe, celle des transformations qu'il subit, celle des relations de ces transformations avec la vie physiologique de l'être qui les produit. Il y a peu de microbes pour lesquels ce programme soit complètement rempli. Il ne l'est même tout à fait complètement pour aucun. Malgré cela, les résultats acquis n'en présentent pas moins, comme on le verra, une grande importance.

Parmi les procès de destruction divers que peuvent subir les matières organiques, nous choisirons d'abord les plus simples, ceux dans lesquels cette destruction est portée tout de suite à son terme extrême sous l'action d'une espèce unique d'infiniment petits. Dans cette catégorie de phénomènes, la règle que nous nous sommes posée plus haut nous amène à parler tout d'abord des matières hydrocarbonées, et à commencer par le sucre.

Nous trouverons à cette marche un autre avantage. La première espèce vivante qu'elle nous amène à étudier est une végétation cryptogamique dont l'alimentation minérale est parfaitement connue, ou du moins est mieux connue que pour un autre microbe quelconque. Nous aurons donc l'avantage de pouvoir donner, dès l'origine, une idée de la complexité des besoins qui existent quelquefois, sous ce rapport, dans le monde des infiniment petits. Il n'est pas sans intérêt ni sans utilité de pouvoir faire de suite une étude complète de cet ordre de phénomènes, quand on est exposé, comme nous le sommes, à n'en rencontrer ailleurs que des fragments incomplets.

CHAPITRE XV

NUTRITION GÉNÉRALE DES FERMENTS. — ASPERGILLUS NIGER

L'étude des conditions de nutrition des plantes inférieures a été impossible tant qu'on n'a su les faire vivre ou les cultiver que sur des milieux organiques complexes, dont la composition était toujours mal connue, et où la nature et la quantité de l'aliment hydrocarboné, azoté et minéral étaient également incertaines. Tout progrès était dès lors subordonné à la possibilité de faire vivre ces espèces microscopiques dans des milieux artificiels convenablement constitués, dans lesquels n'entraient comme éléments constitutifs que des matières cristallisables, à composition parfaitement définie.

L'attention aurait pu être portée depuis longtemps de ce côté. En 1834, Morren avait vu naître dans de l'eau de source des conferves dont il fit une étude suivie. En 1858, M. Béchamp avait vu et étudié les moisissures qui prennent naissance dans l'eau sucrée pure ou mêlée de divers sels. Mais ces savants n'avaient songé ni l'un ni l'autre à rattacher la présence de ces organismes inférieurs à la présence et à la mise en œuvre d'éléments minéraux définis dans le liquide dont ils se servaient. D'ailleurs ces productions se formaient en quantités toujours très faibles, et on avait toujours le droit de les attribuer à la présence de matériaux organiques dans la liqueur. Il n'y avait donc dans tous ces phénomènes, et au point de vue auquel nous nous plaçons, celui de la multiplication d'espèces inférieures aux dépens d'éléments bien définis, rien de bien différent du phénomène journalier de la production des moisissures sur les matières organiques.

Pourtant, en 1853, M. Bineau avait reconnu que les algues ou les filaments incolores, qui croissent dans l'eau de pluie, avaient fait disparaître l'ammoniaque que ces eaux contiennent naturellement, et même celle qu'on y ajoute en faible quantité. C'était un premier pas vers la solution de la question. Mais celle-ci ne fut véritablement comprise, posée et résolue, que dans l'expérience capitale que nous avons relatée, où M. Pasteur montra que de la levure pouvait vivre et se développer dans un milieu artificiel, où n'entraient que du sucre, un sel d'ammoniaque, et les éléments minéraux de la levure qu'on trouvait dans ses cendres. De là résultait, en effet, que la levure pouvait former ses matériaux ternaires aux dépens du sucre, ses matériaux azotés aux dépens du sucre et de

l'ammoniaque, ses matériaux salins aux dépens de ceux qu'elle trouvait dans la liqueur. C'était un végétal formé de toutes pièces.

M. Pasteur employa ensuite des milieux artificiels du même genre pour cultiver et reproduire des bactéries, des vibrions et surtout des mucédinées. Il vit et indiqua tout le parti qu'on pourrait tirer de cette méthode pour l'étude du problème de la vie chez ces espèces microscopiques. Une fois créé le milieu favorable à la vie d'une plante inférieure, on pouvait, en supprimant dans ce milieu, un à un, les divers éléments qui le constituent, avoir une mesure de l'influence de l'élément disparu par la réduction que subissait la récolte de la plante.

C'est ainsi qu'en supprimant tour à tour, dans le milieu où il faisait vivre ses mucédinées, le sucre, le sel d'ammoniaque, les matières minérales, il avait vu dans chaque cas la récolte devenir presque nulle. Il observa de même qu'une diminution dans la proportion des alcalis ralentissait la végétation. Enfin il essaya vainement de remplacer les phosphates des cendres par des arséniates. Les microbes se refusaient à cette substitution.

En revanche, l'ammoniaque pouvait être remplacée par d'autres composés azotés. M. Pasteur avait pu lui substituer avec succès le nitre et l'éthylamine. Mais si les expériences étaient concluantes quand il s'agissait de mettre en évidence de grosses influences, comme celles qui se traduisent par une forte diminution ou même une suppression de la récolte, elles étaient incapables de servir à mettre en évidence des actions plus faibles, de l'ordre de celles qu'on rencontre dans tous les phénomènes vitaux, chez lesquels tout est nuance.

Cette étude était à son tour subordonnée à un progrès nouveau. Les milieux artificiels composés par M. Pasteur étaient tous inférieurs, comme valeur nutritive, aux milieux naturels où l'on cultivait les mêmes espèces. Avec aucun d'eux, le poids de récolte n'avait atteint celui qu'on aurait obtenu, dans le même temps et dans les mêmes conditions extérieures, au moyen d'un liquide organique complexe approprié. De plus, deux de ces milieux artificiels, préparés en même temps, ensemencés dans les mêmes conditions et conservés l'un près de l'autre, ne donnaient pas toujours le même poids de récolte. De ce double défaut résultait un double inconvénient. D'abord les oscillations dans le poids de la récolte, d'où l'on pouvait conclure l'influence utile ou nuisible d'un élément ajouté ou supprimé, ne se faisaient qu'entre des limites très faibles. De plus, l'amplitude de cette oscillation était toujours compliquée des variations d'amplitude qu'on observait en mettant en expérience deux essais pareils. On mesurait, en résumé, les écarts très faibles d'un pendule, non au moyen d'une ligne fixe, mais au moyen d'un autre pendule qui subissait lui-même des écarts de même ordre, quelquefois dans le même sens, quelquefois en sens inverse, et cela, sans que rien en avertît.

Toutes ces difficultés tenaient à ce que le milieu artificiel, avec la composition qu'on lui avait donnée, n'était pas le milieu le plus favorable, puisqu'il n'atteignait pas même au niveau d'un milieu organique naturel. Rien ne disait *a priori* qu'il fût possible de l'amener à ce niveau. Mais en tout cas, ce à quoi il fallait s'attacher, c'était à perfectionner sa composition, de façon à lui faire produire dans un temps donné, avec un poids constant de matières nutritives,

un poids de végétal, aussi grand que possible d'abord, aussi constant que possible ensuite. La constance du poids des récoltes dans deux essais faits et maintenus à côté l'un de l'autre assurait une base solide aux mesures, et la grandeur de ce poids donnait à la base une longueur suffisante pour que l'effet de la suppression de l'un des éléments nutritifs fût nettement discernable.

Voilà le problème posé dans ses traits généraux; si nous l'examinons de près, nous voyons que sa solution n'est pas facile. Il s'agit d'abord de composer de toutes pièces le milieu le plus favorable à la vie d'une espèce microscopique. C'est dire que la solution du problème suppose le problème résolu. On n'arrivera au résultat que par des tâtonnements méthodiques, dans une série de travaux suivis, et en échafaudant lentement chaque progrès sur un autre. On ne peut pour cela compter sur le hasard, car le nombre de combinaisons qu'on peut réaliser en mélangeant de toutes les manières les substances définies de la chimie est infini, et il n'y en a qu'une, théoriquement, qui soit celle que l'on cherche.

Supposons pourtant qu'on ait créé ce milieu, et déterminé assez bien les conditions physiques qui doivent accompagner la germination de la plante qu'on cultive, pour qu'il s'en produise, à l'aide d'une quantité déterminée d'aliments, un poids très grand dans un temps très court: il faudrait ne pas connaître toutes les variations que l'on rencontre dans les phénomènes de la vie, pour espérer que deux essais pareils, deux essais types, faits avec le milieu que l'expérience a fourni, vont donner des résultats identiques. Ils fourniront des récoltes oscillant entre une limite supérieure P et une limite inférieure P'. Il faudra dès lors constamment avoir présente à l'esprit la valeur du rapport $\frac{P'}{P}$ qui représentera l'erreur possible du procédé. Si, dans un autre essai, nous trouvons que le milieu type donne un poids de récolte P_1, et le même milieu privé d'un de ses éléments une récolte P'_1, il ne suffira pas, pour conclure que l'élément supprimé était utile, de constater que $\frac{P'_1}{P_1}$ est plus petit que 1, il faudra encore qu'il soit plus petit que $\frac{P'}{P}$, c'est-à-dire que l'erreur possible que le procédé comporte.

Toutes les difficultés que nous venons de signaler ont été résolues dans un remarquable travail de M. Raulin. Ce savant est arrivé à obtenir, dans un milieu acidulé ne refermant que du sucre et des sels minéraux parfaitement purs, des récoltes d'une mucédinée spéciale, sans mélange d'espèces étrangères, et plus abondantes que celles que formerait dans les mêmes conditions le milieu organique le mieux approprié. De plus, ces récoltes sont de poids constant, à $\frac{1}{20}$ près de leur valeur.

La plante qu'il cultive est une espèce d'aspergillus nommée *aspergillus niger*. Elle est formée, comme toutes les végétations microscopiques, d'un mycélium rameux qui vit dans le liquide où on la sème. De ce mycélium partent (fig. 34), en s'élevant dans l'air, des petites colonnettes cylindriques, plus larges que les filaments de mycélium, et se renflant à leur extrémité en une sorte de capitule rond. Sur ce capitule sont implantées, dans des directions radiales, des stérig-

mates portant des files de spores noires, sphériques, et un peu hérissées à leur surface. Ces spores ensemencées en terrain favorable donnent bientôt, comme

En *a*, port général de la plante. (G[t] 30). Deux filaments sporifères, jeunes, ont leur renflement rempli de protoplasma, mais pas encore de spores. Le mycélium immergé est plus large et moins anastomosé que ne le représente la figure.

En *b*, extrémité grossie deux cents fois du filament fertile. Les chapelets de spores dont on n'a représenté que l'origine, s'insèrent sur le renflement par l'intermédiaire de stérigmates. C'est cette particularité qui a engagé M. Van Tieghem à donner à cette plante le nom de *stérigmatocystis*.

En *c*, spores, grossies cinq cents fois. Elles sont transparentes au microscope, bien que leur surface soit très nettement rugueuse, ou plutôt hérissée de petites aspérités.

En *d*, spores germant et poussant leurs tubes mycéliens. La spore grossit un peu à ce moment et prend une surface plus lisse. Puis elle semble *se vider* dans le filament mycélien, ce filament devient lui-même très rameux, et porte des cloisons nombreuses.

Fig. 31. — *Aspergillus niger ou sterigmatocystis niger.*

le représente la figure, des tubes mycéliens qui s'enchevêtrent et forment une couche d'abord jaunâtre, puis brun foncé, quand de nouveaux filaments sporifères ont apparu et que la fructification se produit.

Cet aspergillus pousse très facilement sur du pain mouillé de vinaigre, sur l'eau de levure acidulée, sur les tranches de citron, en général sur les fruits et les liqueurs acides, et lorsqu'on n'en possède pas de semences, il suffit d'abandonner quelques jours à l'air un de ces milieux, ou de préférence le liquide minéral que nous allons apprendre à préparer, pour qu'un ensemencement spontané, venant de l'air, le fournisse mêlé à plusieurs espèces végétales. On reconnaît l'aspergillus à ses fructifications noires; on le sème alors à nouveau sur un liquide artificiel, et on réussit bientôt à l'obtenir pur de tout mélange.

Le liquide artificiel composé par M. Raulin, qui fournit les récoltes abondantes dont nous parlions tout à l'heure, doit avoir la composition suivante :

Eau	1 500gr,00
Sucre candi	70 ,00
Acide tartrique	4 ,00
Nitrate d'ammoniaque	4 ,00
Phosphate d'ammoniaque	0 ,60
Carbonate de potasse	0 ,60
Carbonate de magnésie	0 ,40
Sulfate d'ammoniaque	0 ,25
Sulfate de zinc	0 ,07
Sulfate de fer	0 ,07
Silicate de potasse	0 ,07

Ceci est la *formule* à suivre quand on veut préparer ce liquide artificiel. Quand on veut étudier ce liquide au point de vue de la nature et de la proportion des éléments mis en œuvre par la plante, il est utile d'en envisager la composition sous la forme équivalente que voici :

Eau	1 500gr,00
Sucre candi	70 ,00
Acide tartrique	10 ,00
Ammoniaque	2 ,00
Acide phosphorique	0 ,40
Acide sulfurique	0 ,25
Acide silicique	0 ,03
Potasse	0 .40
Magnésie	0 ,20
Oxyde de zinc	0 ,04
Oxyde de fer	0 ,03

Ce qui donne, avec l'oxygène de l'air mis en œuvre pendant tout le procès végétatif, un total de douze éléments chimiques nécessaires, comme nous allons le voir, à la nutrition complète de la plante.

Outre ces éléments chimiques, il faut encore faire intervenir des éléments physiques. D'abord une température convenable, qui, comme nous l'avons déjà vu, p. 98, doit être voisine de 37°. Puis un état hygrométrique qui protège le liquide contre une évaporation trop rapide, et la plante contre toute dessiccation. L'expérience montre en effet que, dans l'air sec, la végétation est en retard sur la végétation dans l'air humide, et le poids de la récolte moins constant. Il faut que l'hygromètre à cheveu marque au moins 60° dans l'étuve où l'on cultive la plante, et pour amener l'air chauffé à ce degré de saturation, il faut provoquer,

par un moyen quelconque, à la partie inférieure de l'étuve, une abondante évaporation.

La plante ayant besoin d'oxygène pour vivre, il faut aussi renouveler l'air à son voisinage, et la présenter à l'action de ce gaz sous la plus grande surface possible. De là résultent diverses conséquences.

Un vase découvert donnera, toutes choses égales d'ailleurs, des récoltes plus abondantes qu'un vase couvert d'une lame de verre. Mais les différences sont faibles, et comme, d'un autre côté, l'évaporation du liquide est beaucoup plus active dans le vase découvert, et qu'il peut en résulter des causes d'erreur graves, il vaudra toujours mieux, lorsqu'on n'aura qu'un petit nombre d'essais, employer des vases couverts d'une lame de verre, qui arrête l'évaporation, sans trop nuire au renouvellement de l'air. Lorsqu'on aura un grand nombre de cultures, serrées les nnes contre les autres, on pourra et même on devra de préférence laisser les vases découverts.

Toutcfois, comme, dans un vase ainsi couvert, l'oxygène arrive seulement par les bords à la surface de la végétation, et comme ce n'est que par les bords de la couche mycélienne qu'il pourra se dissoudre dans le liquide, on se mettra dans des conditions d'autant meilleures que le rapport du périmètre à la surface du vase sera plus grand. C'est dire que des cuvettes rectangulaires seront préférables à des vases circulaires de même surface.

Enfin, on comprend qu'il faut aussi que le liquide nutritif soit mis en couche mince. En profondeur, il y a trop peu de surface pour le développement de la mucédinée, eu égard à la quantité de masse alimentaire. En couche très mince, il y a au contraire trop de surface végétante pour trop peu d'aliments. Le rapport de la surface à la profondeur doit donc avoir une valeur moyenne, dépendant de la composition du liquide nutritif. Avec celle qui est indiquée plus haut, on est dans les meilleures conditions possibles, quand on répartit les 1 500 centimètres cubes de liquide dans une cuvette de porcelaine rectangulaire, à bords verticaux, et de dimension telle que le liquide y ait une hauteur de 30 à 35 millimètres.

Si, lorsque toutes ces conditions sont réunies, on sème sur le liquide les spores du végétal, elles ne tardent pas à se développer, et, au bout de 24 heures, ou même de 18 heures, si elles n'étaient pas trop sèches, leurs filaments mycéliens enchevêtrés forment à la surface une membrane continue, d'aspect blanchâtre, recouvrant tout le liquide. Au bout de 48 heures, cette membrane est déjà très épaisse; elle devient d'abord jaunâtre, puis brun foncé. Enfin, après trois jours de végétation, elle est devenue tout à fait noire. Son poids augmenterait encore pendant le quatrième jour et les suivants, mais beaucoup plus lentement que pendant les trois premiers. Comme on doit viser à obtenir, toutes choses égales d'ailleurs, le poids de récolte le plus grand possible dans le même temps, il y a utilité à enlever tout ce qui s'est formé de mucédinée, et à faire servir ce qui reste d'aliments nutritifs à la production d'une nouvelle récolte. On enlève avec les doigts la membrane très consistante du troisième jour, on la presse fortement dans la main, pour exprimer la majeure partie du liquide qui l'imprègne, on l'étend sur une soucoupe, on la sèche à 100° et on la pèse. Le liquide sous-jacent se trouve d'ordinaire être suffisamment ense-

mencé par les spores résultant de l'égouttage de la membrane, on remet le tout à l'étuve, et, au bout de trois jours, on obtient une nouvelle récolte plus faible que la première. Le liquide restant est alors à peu près épuisé, et incapable de donner une troisième récolte de poids appréciable.

L'ensemble des deux premières forme un total d'environ 25 grammes, à un vingtième près, comme nous l'avons dit plus haut. Nous avons donc réuni pour notre expérience les deux conditions que nous avons vu plus haut être nécessaires au succès. Notre récolte est d'abord très grande, ensuite aussi constante que possible.

Pourrions-nous l'augmenter encore? En d'autres termes, ne pourrions-nous pas, en ajoutant à notre milieu minéral des éléments nouveaux, élever le chiffre du poids de végétal qu'il peut produire avec un poids donné de matériaux nutritifs? Nous avons le droit de nous poser cette question, puisque nous savons déjà que la suppression de l'un des éléments, qui entrent dans la constitution de ce milieu, diminue la récolte. Il est donc possible d'espérer qu'en ajoutant quelque chose à notre milieu, nous augmenterons le rendement.

Pour le savoir, ajoutons à notre milieu minéral, et de composition connue, des substances minérales ou organiques complexes, de composition inconnue, mais choisies parmi celles qui se recouvrent le plus facilement d'aspergillus au contact de l'air. Il est probable que ces substances doivent renfermer tous les éléments utiles, et s'il y en a qui ne soient pas déjà contenus dans notre milieu minéral, nous en serons avertis par une augmentation du poids de la récolte.

L'expérience montre que l'on ne gagne rien par ce procédé, même en variant les essais le plus possible, et même on trouve, en comparant le milieu artificiel ci-dessus à des milieux organiques renfermant la même proportion d'éléments solides que lui, que ce milieu donne des récoltes beaucoup plus abondantes que les autres. Nous avons donc le droit de croire que ce milieu est à la fois nécessaire et suffisant. Nous rencontrerons du reste bientôt un autre fait conduisant à la même conclusion.

Influence des éléments minéraux. — Nous pouvons, dès lors, rechercher avec sécurité quel est le degré d'influence, sur le développement de l'aspergillus, des divers éléments qui y concourent. Voulons-nous savoir, par exemple, par quel chiffre se mesure l'utilité de la potasse dans le liquide nourricier? Faisons vivre pour cela la plante dans deux cuvettes jumelles, renfermant l'une le liquide complet, l'autre le liquide sans potasse. Dans le premier cas, il se produira comme à l'ordinaire, à 1 gramme environ près, 25 grammes de plante. Dans l'autre, il s'en produira 1 gramme seulement. La suppression de la potasse fait donc tomber la récolte au vingt-cinquième de ce qu'elle était; nous dirons que son utilité se mesure par le nombre 25, et en faisant le même essai pour les divers éléments minéraux, nous trouverons, en adoptant le même mode d'évaluation que pour la potasse, les nombres suivants pour mesure de l'utilité des divers éléments minéraux :

Ammoniaque	153
Acide phosphorique	182
Magnésie	91

Potasse	25
Acide sulfurique	25
Oxyde de zinc	10
Oxyde de fer	2,7
Silice	1,4

Les nombres de ce tableau, relatifs à l'ammoniaque, à l'acide phosphorique, à la potasse, à la magnésie, si grands qu'ils soient, n'ont pas le droit de nous étonner. Il y a longtemps qu'on sait que tous ces corps sont d'excellents engrais, et si leur suppression dans une culture n'a jamais amené des abaissements de récolte comparables à ceux que nous venons de constater, c'est que jamais on n'a été maître de la composition du milieu comme on l'est dans les expériences de M. Raulin. Mais le même tableau nous fournit des faits tout à fait imprévus. Nous y voyons, en effet, que la suppression du zinc ramène la récolte au dixième de ce qu'elle était, en d'autres termes la fait tomber de 25 grammes à 2gr,5. L'intervention aussi active de cet élément dans un phénomène de végétation est un des résultats les plus curieux du travail que nous analysons.

On peut en augmenter l'intérêt par une remarque toute naturelle. Les chiffres ci-dessus mesurent en bloc l'utilité de chacun des éléments minéraux, mais ne tiennent pas compte des proportions variables de ces divers éléments. Par exemple, la quantité d'oxyde de zinc, qui fait baisser la récolte de 25 grammes à 2gr,5, n'est que de 4 centigrammes, renfermant seulement 32 milligrammes de zinc. L'action de cette faible quantité de métal suffit donc à produire une plus-value de 22gr,5 dans la récolte, c'est-à-dire d'un poids de plante 700 fois supérieur au sien. Ce chiffre a même pu, dans quelques expériences, s'élever jusqu'à 953, et ce nombre peut à son tour être considéré comme mesurant ce qu'on peut appeler l'utilité spécifique du zinc pour la récolte. En étudiant de la même manière les autres substances, M. Raulin a trouvé les nombres maxima suivants pour la quantité de mucédinée que peut servir à former un gramme des divers éléments du milieu type.

Azote (de l'ammoniaque)	17
Potassium (de la potasse)	64
Phosphore (de l'acide phosphorique)	157
Magnésium (de la magnésie)	200
Soufre (de l'acide sulfurique)	346
Zinc (de l'oxyde de zinc)	953
Fer (de l'oxyde de fer)	857
Silicium (de la silice)	320

Tous ces nombres sont notablement différents que ceux du tableau qui précède, et pour le zinc en particulier, le caractère étrange de son intervention s'accentue encore plus ici. Nous aurons bientôt à nous demander en quoi consiste cette influence singulière. Contentons-nous pour le moment de l'enregistrer, et de remarquer que la plante, pour se donner ce zinc qui semble lui être si utile, est obligée de le puiser dans un liquide où il est dilué au $\frac{1}{50\ 000}$. De quelles proportions infinitésimales d'un élément utile peut dépendre la santé d'un être vivant, la prospérité d'une culture

Enfin, si l'on songe que sur un liquide qui contient seulement $\frac{1}{50\,000}$ de zinc, une ou deux générations d'aspergillus peuvent, en absorbant complètement ce métal, rendre l'existence d'une nouvelle génération chétive ou impossible, que sur un tel liquide un nouvel ensemencement, j'allais dire une nouvelle inoculation, resterait sans effet, qui pourrait ne pas être surpris de la perspective qui s'ouvre sur les propriétés si merveilleuses et si étranges du vaccin, qui ne s'implante pas deux fois de suite sur le même organisme ?

Mais notre végétal est encore plus sensible, s'il est possible, à l'action des éléments qui lui sont nuisibles. Ajoute-t-on au liquide nourricier $\frac{1}{1\,600\,000}$, un *seize cent millième* de nitrate d'argent, la végétation s'arrête brusquement. Elle ne peut même pas commencer dans un vase d'argent, bien que la chimie soit presque impuissante à montrer qu'une portion de la matière du vase se dissout dans le liquide. Mais la plante l'accuse en mourant. Elle accuse de même $\frac{1}{500\,000}$ de sublimé corrosif, $\frac{1}{8\,000}$ de bichlorure de platine, $\frac{1}{240}$ de sulfate de cuivre. Une simple réflexion rendra ces chiffres intéressants. Supposons que l'aspergillus soit un parasite humain pouvant vivre et se développer dans l'organisme, et l'envahissant tout entier, la quantité de nitrate d'argent nécessaire pour le faire disparaître du corps d'un homme pesant 60 kilogrammes serait seulement de 40 milligrammes. S'il se développait seulement dans le sang, un être aussi sensible que l'aspergillus à l'action du nitrate d'argent n'exigerait pas plus de 5 milligrammes de son toxique.

Rôle physiologique des éléments minéraux. — L'étude physiologique du milieu artificiel propre au développement de l'aspergillus, telle que nous la comprenons, exige la solution de deux ordres de questions. Il faut démontrer l'influence de chacun des éléments de ce milieu, puis déterminer le rôle physiologique de chacun d'eux. Nous venons de résoudre à peu près complètement la question pour les éléments minéraux, mais nous n'avons pas abordé la seconde. Les seuls faits précis que l'on ait sur ce sujet important ont été trouvés par M. Raulin, et il les a rencontrés en mettant en œuvre une méthode de vérification des résultats précédents dont nous devons dire un mot.

Mettons à l'étuve deux cuvettes identiques contenant chacune du liquide Raulin complet, moins un seul élément. Les récoltes que nous obtiendrons sur les deux seront tout d'abord à peu près égales, et faibles. Quand nous en aurons obtenu deux ou trois, ajoutons, dans l'un des essais seulement, l'élément qui manque. Là, les récoltes vont s'élever tout à coup et devenir très supérieures, à la fois aux récoltes précédentes de la même cuvette, et aux récoltes de même ordre du milieu resté incomplet. De cette double comparaison, de ce changement subit dans la valeur des nombres, résultera jusqu'à l'évidence l'efficacité de l'élément ajouté.

L'expérience faite, dans les conditions que je viens d'indiquer, sur le sulfate d'ammoniaque, ou le sulfate de zinc, par exemple, donne bien le résultat prévu

à l'avance, et confirme ce que nous avons appris plus haut sur l'utilité de ces deux corps. Mais avec le sulfate de fer, il n'en est plus de même. L'addition du fer dans un milieu qui a nourri plusieurs récoltes languissantes ne rend pas la végétation plus prospère, et ne relève guère le poids de la récolte au-dessus de sa valeur primitive, ni au-dessus de la valeur qu'elle conserve dans le milieu qu'on a laissé privé de sel de fer.

Si donc ce milieu, auquel on a ajouté le fer, est resté impropre à une végétation vigoureuse, ce n'est pas qu'un élément essentiel y manque, c'est que, par le fait même du développement de l'aspergillus en l'absence des sels de fer, il a dû se former une substance vénéneuse pour la mucédinée, substance que les sels de fer empêchent de se produire, mais ne peuvent détruire.

Cette interprétation des faits est d'accord avec une remarque qu'on peut faire sur le mode de fructification de l'aspergillus en l'absence des sels de fer. L'évolution de la spore semble alors d'autant plus pénible que le milieu, où elle germe, a déjà nourri un plus grand nombre de récoltes. Or, on n'observe rien de pareil dans un milieu où manque un élément essentiel autre que le fer.

D'ailleurs, voici qui semble démontrer la formation d'un composé spécial en l'absence des sels de fer. Le liquide privé de fer, qui a déjà fourni deux ou trois récoltes, donne une coloration rouge avec un sel quelconque de sesquioxyde de fer; la substance qui donne cette coloration est destructible par le chlore, le permanganate de potasse. Toutes ces réactions appartiennent à l'acide sulfocyanhydrique, mais il n'y a encore rien de démontré au sujet de la présence réelle de ce corps.

Quoi qu'il en soit, on voit que les sels de fer semblent jouer, dans la physiologie de l'aspergillus, un tout autre rôle que les sels de zinc. On aurait pu croire, en se fondant sur certaines considérations d'ordre purement chimique, que ces deux corps, fer et zinc, pouvaient se substituer l'un à l'autre. M. Raulin avait déjà démontré, par la méthode que nous avons indiquée en premier lieu, que cette substitution était impossible. Les expériences que nous venons de relater en dernier lieu nous donnent comme la raison physiologique de cette impossibilité.

Elles nous permettent aussi de ne pas nous étonner de l'apparente singularité qu'il y avait à voir apparaître le fer comme élément utile dans la formation d'une plante qui ne contient pas de chlorophylle. Mais, en revanche, on peut en conclure aussi qu'il y a peut-être quelque chose de trop absolu à vouloir toujours rattacher la présence du fer à la création d'une matière colorante, comme on le fait quelquefois en physiologie végétale.

Enfin, il y a une dernière remarque à faire à propos du calcium, dont la relation avec la formation des organes foliacés semble aussi assez généralement acceptée. L'aspergillus niger semble ne pas avoir besoin de cet élément. Il est vrai qu'il ne possède pas de feuilles, mais les filaments qu'il dresse dans l'air sont d'actifs agents d'évaporation, comme les feuilles. Nous verrons d'un autre côté que des cellules vivant complètement plongées dans l'eau, comme celles de la levure, ont besoin d'un sel de chaux. Concluons-en que toutes nos connaissances sur ce sujet et toutes nos idées sont encore très imparfaites.

C'est en ces quelques faits que se résume tout ce que nous savons sur le rôle

physiologique des éléments dont nous avons montré l'utilité pratique. Il est clair qu'ils ne sont pas suffisants, et qu'il y a de ce côté une étude à faire. Le végétal assimile-t-il aveuglément, en bloc et sans ordre, les divers sels qu'on lui offre, ou fait-il entre eux un choix, suivant qu'il s'agit de former son mycélium ou ses organes de fructification? C'est le second cas qui est probable. Certains sels sont sans doute plus nécessaires pour la formation des spores, qui sont plus azotées que le reste de la plante, et comme il n'y a pas de matière protéique sans phosphore, c'est peut-être à ce moment que les phosphates sont plus volontiers absorbés.

Bien qu'on n'ait pas de connaissances précises sur ces questions délicates, on peut néanmoins tirer quelques conclusions des faits que nous connaissons déjà.

L'expérience montre d'abord que, si imparfait, si incomplet que soit le milieu où on fait vivre l'aspergillus, la plante ne s'arrête jamais à moitié chemin dans son évolution, et aboutit toujours à la formation de la spore. Son mycélium est plus ou moins grêle, plus ou moins rameux, les spores sont plus ou moins nombreuses, mais le végétal en produit toujours. Ceci n'est pas, en apparence, favorable à l'idée qu'il y a, dans le milieu minéral, des éléments plus utiles au système nutritif, d'autres, plus utiles au système reproducteur. Il semble qu'ils aient tous le même rôle, et qu'aucun d'eux ne soit, à proprement parler, indispensable au végétal, puisque le cycle de végétation peut se fermer sans lui.

Prise dans un sens absolu, cette conclusion serait inexacte, parce qu'il est impossible de constituer un milieu absolument pur de tel ou tel élément. On a beau prendre, pour cultiver l'aspergillus, du sucre candi parfaitement blanc et cristallisé, des sels minéraux dans le plus grand état de pureté, on ne peut jamais affirmer que la plante ne rencontrera pas dans le mélange qu'on lui offre le corps dont on a voulu la priver. Son organisme est un réactif autrement sensible que la plupart de nos procédés chimiques, et nous avons vu qu'elle manifestait, en refusant de vivre dans une capsule d'argent, l'existence d'une quantité de sel d'argent que n'atteignaient pas les réactifs pourtant si sensibles de ce corps. D'ailleurs, nous verrons, à propos de la fermentation alcoolique, que le sucre candi le plus pur contient d'assez notables quantités d'azote et de soufre. D'un autre côté, en admettant la pureté exemplaire des sels employés, les parois de la capsule de porcelaine ne sont pas absolument insolubles, et peuvent laisser passer en solution dans le liquide une partie de leurs éléments constituants. Enfin, en admettant que l'on ait tout à fait réussi à éliminer du liquide un corps déterminé, il faut bien y ajouter de la semence, des spores, qui apporteront avec elles un peu de sels minéraux, qu'une loi naturelle accumule en effet dans les graines, et les abandonneront peu à peu, au fur et à mesure de la germination, aux organes nouvellement formés.

Si donc, en supprimant à la plante successivement chacun des éléments de son milieu nutritif, on n'arrive pas à l'arrêter dans son évolution, il faut en conclure, non pas qu'aucun de ces éléments n'est absolument indispensable à l'aspergillus, mais seulement que ce végétal a la faculté de se contenter quelquefois de très peu sous ce rapport. Quand il rencontre autour de lui l'élément utile, il l'absorbe, et traduit ces conditions de vie facile par une grande exubérance de

développement. Quand il n'en a que très peu, quand il est obligé, par exemple, de se contenter de celui qu'il trouve dans la graine, il réduit ses organes et leurs besoins, il leur distribue parcimonieusement tout ce dont il peut disposer, et arrive en s'épuisant, et en épuisant peu à peu tous ses tissus, à fournir des spores douées, il est vrai, de peu de vitalité, incapables de recommencer une vie aussi pénible que celle qui leur a donné naissance, mais n'ayant besoin que de rencontrer un milieu favorable pour revenir à la santé, et assurer la perpétuité de l'espèce.

Aussi, si grands que soient les chiffres par lesquels nous avons représenté l'utilité spécifique des éléments minéraux du liquide Raulin, sont-ils encore de beaucoup au-dessous de la réalité. Si 1 gramme de zinc, par exemple, peut amener la formation de 953 grammes de plante, ce chiffre ne représente que la différence entre la production du milieu complet et celle du milieu qu'on suppose avoir privé de zinc, parce qu'on n'en a pas mis sous forme minérale. Si l'on pouvait obtenir un liquide Raulin absolument pur de cet élément, on verrait l'adjonction d'un peu de zinc élever bien plus le niveau de la récolte.

Nous verrons, à propos de la levure, que ce végétal est capable de déployer, vis-à-vis de l'oxygène, cette même parcimonie dans l'emploi que l'aspergillus nous montre à propos du zinc, et que, sous ce point de vue, l'oxygène ressemble aux autres éléments minéraux.

Toutefois, ces réserves faites, il n'en est pas moins très curieux, au point de vue de l'étude des végétaux supérieurs, de voir la prospérité d'une récolte dépendre, dans une assez large mesure, de l'existence de certains éléments en quantités extrêmement petites. Combien il est peu probable, si les phénomènes de végétation sont aussi compliqués chez ces plantes microscopiques, qu'ils soient, chez les végétaux supérieurs, aussi simples qu'on le professe quelquefois. Lorsque pour assurer la bonne tenue d'une culture, on se contente de rendre au sol du phosphore, de la potasse, de la magnésie et des composés azotés, n'est-il pas évident qu'on compte sur le sol pour fournir les autres éléments utiles, sans savoir quels ils sont. Si le sol peut faire ce qu'on lui demande, tout va bien ; s'il ne le peut pas, ou si à un moment donné il ne le peut plus, et que l'élément disparu de la sole soit du même ordre que le zinc pour l'aspergillus, par exemple, on voit la récolte baisser, et on pourra dès lors augmenter la dose d'engrais potassique ou azoté au delà de toute mesure, on verra cette fumure intensive échouer là même où elle réussissait naguère.

C'est que le problème de l'alimentation minérale n'est pas résolu pour les plantes, tandis qu'il l'est pour l'aspergillus. Un jour viendra peut-être où on renoncera aux fumiers encombrants et coûteux, où l'agriculteur aura dans son grenier, dans des sacs étiquetés, la quantité d'engrais à répandre sur un hectare de ses divers terrains pour en tirer telle ou telle récolte. L'expérience de l'aspergillus prouve que cela est possible, mais l'expérience agricole prouve que ce moment n'est pas encore venu.

Il peut sembler surprenant de voir étendre *de plano*, aux grands végétaux, les conclusions auxquelles nous sommes arrivés pour notre aspergillus. Mais il faut remarquer que si la plante est microscopique, la récolte ne l'est pas. 25 grammes de plante à l'état sec, récoltés en six jours sur une cuve de porcelaine comme

celles que nous avons employées, représentent 550 kilogrammes à l'hectare à l'état sec, ou 3,500 kilogrammes à l'état humide.

Concluons donc qu'il est possible que nous en soyons pour nos cultures agricoles industrielles au point où en était M. Raulin avant d'avoir reconnu l'utilité du zinc, qui a décuplé du coup le poids de ces récoltes. Ce qui fait croire qu'il en est ainsi, c'est un dernier fait qui nous reste à signaler.

L'aspergillus poussant sur les liquides organiques qui le nourrissent le plus facilement est loin, nous l'avons vu, de prendre le développement qu'il prend sur les liquides artificiels. Sa croissance est incertaine, soumise à une foule de hasards ou de caprices apparents. Il rencontre autour de lui des parasites qui le gênent et quelquefois l'étouffent. Ce sont là exactement les conditions des plantes de nos champs et de nos jardins. Mauvaises herbes, maladies parasitaires, tout cela se rencontre dans les cultures les mieux soignées.

Sur un liquide convenable, au contraire, l'aspergillus donne une couche serrée, homogène, d'aspect vigoureux, et au lieu d'être entravé par les espèces parasites, c'est lui qui étouffe toutes les végétations qui pourraient tenter de lui disputer la place.

Ne nous bornons même pas au règne végétal, transportons cette notion sur un plus grand théâtre. Nous verrons qu'elle n'est pas autre chose que le combat pour l'existence entre les êtres de la création. Ils ont tous leurs ennemis ou leurs parasites; leur loi commune est de manger ou d'être mangés, et il ne manque pas de prétendues lois naturelles permettant de s'expliquer comment ils arrivent à résoudre ce dilemme dans le sens le plus favorable. Avec notre aspergillus, la solution est plus simple. Nous connaissons avec lui les conditions de la lutte. Elles sont d'un ordre purement chimique. On peut bien dire que l'aspergillus n'écrase ses ennemis que parce qu'il est vigoureux, mais il n'est vigoureux que parce qu'il trouve dans son milieu nutritif tous les éléments dont il a besoin. Si l'un d'eux lui manque, il vit encore, mais plus péniblement, et sa force de résistance diminue. Si plusieurs lui font défaut, il s'étiole et cède la place à une espèce voisine, moins exigeante que lui ou ayant des besoins différents qui sont mieux satisfaits.

On sent, sans qu'il soit besoin d'insister, qu'il doit y avoir des phénomènes analogues dans la vie des animaux et des végétaux supérieurs. Mais, en les étudiant, nous nous écarterions de notre domaine. Il vaut mieux y rester confinés. Nous y rencontrerons souvent cette notion de la lutte entre deux microbes se disputant un terrain commun, et nous aurons souvent à faire appel à la notion claire que nous venons d'en prendre, et qui ne se présentera que rarement à nous avec la même précision.

BIBLIOGRAPHIE

J. Raulin. — Études chimiques sur la végétation. — Recherches sur le développement d'une mucédinée dans un milieu artificiel. *Ann. des sciences naturelles*, 1870.

CHAPITRE XVI

ALIMENTS HYDROCARBONÉS DE L'ASPERGILLUS

Nous avons maintenant à nous demander où et comment l'aspergillus puise les matériaux à l'aide desquels il édifie ses organes. Nous savons déjà qu'il emprunte son azote aux sels ammoniacaux, et M. Raulin a démontré, en outre, qu'il pouvait aussi le prendre aux nitrates, ressemblant en cela aux végétaux supérieurs. Nous n'avons pas encore étudié de quelle façon il emprunte son carbone, son hydrogène et son oxygène aux éléments du liquide nutritif qui en contiennent, et qui sont l'eau, l'acide tartrique et le sucre.

Rôle de l'eau. — Nous avons à résoudre, à propos de l'eau, un triple problème. Rechercher d'abord, comme à propos des éléments minéraux, si elle est utile, puis en quelles proportions, enfin déterminer quelle est l'augmentation de récolte qui résulte de son intervention.

La première partie du problème est résolue d'avance. Il est clair que tous les sels minéraux et le sucre, employés seuls et à sec, ne pourraient donner aucune trace de végétation. Il est clair aussi que la plante, étant un agent actif d'évaporation, il ne faudra pas que la quantité d'eau qu'on lui fournit soit trop faible.

M. Raulin a vu, en effet, que tant que le poids de l'eau n'atteint pas quatre fois le poids total des éléments solides, employés dans la proportion ordinaire, le poids de la récolte reste faible, tout en augmentant avec le poids de l'eau employée. Mais la fructification n'apparaît pas. Quand on amène le poids de l'eau à huit fois le poids des éléments solides, la récolte augmente et les spores se forment, mais avec beaucoup de lenteur. Enfin, à partir d'un poids d'eau égal à douze fois le poids de matériaux solides, la mucédinée se développe régulièrement, et le poids de la récolte devient à peu près constant dans des vases d'égale profondeur, quelle que soit la quantité d'eau du milieu, pourvu que les autres éléments restent invariables.

Il suffirait donc, dans le milieu type, qui contient, d'après la composition donnée, p. 203, environ 80 grammes d'éléments solides, de mettre environ 1 litre d'eau. Nous en avons mis 1500 centimètres cubes. C'est pour tenir compte de l'évaporation de l'eau dans le cours de la végétation, évaporation qui va à

60 ou 80 grammes par jour dans les vases couverts d'une lame de verre, mais qui est bien plus considérable dans les vases découverts.

Ceci résout la seconde partie de notre problème. Quant à la proportion pondérale entre le poids de l'eau et le poids de plante que l'eau permet d'obtenir, elle pourrait être, d'après les chiffres que nous connaissons, de 25 grammes de plante environ pour un litre d'eau, d'où le nombre $\frac{1}{40}$ environ pour le rapport cherché. Plus grand que l'unité avec les éléments minéraux, il est plus petit que l'unité pour l'eau, ce qui n'a rien de surprenant, l'eau jouant un rôle multiple. Une portion, égale à cinq fois le poids de la plante sèche, est entrée dans la constitution du végétal. Une autre portion a servi à la transpiration de la plante, une autre portion à l'évaporation. Enfin, une dernière portion doit rester comme substratum. A raison de tous ces faits, le rapport $\frac{1}{40}$, que nous venons d'obtenir, n'a pas pour l'eau la signification assez précise qu'il avait pour les éléments minéraux.

Rôle de l'acide tartrique. — L'acide tartrique joue un double rôle dans le liquide nutritif. Il en maintient l'acidité d'abord, puis il subit lui-même une combustion véritable.

Il est en effet utile, pour que l'aspergillus se développe bien, que le liquide Raulin soit un peu acide. Si l'on n'ajoutait pas d'acide tartrique, ce liquide, à raison du carbonate de magnésie qui entre dans sa constitution, serait un peu alcalin, et, comme tel, risquerait d'être envahi, dans nos cuves ouvertes, par des bactéries et autres productions, alors même qu'on y aurait ensemencé largement des spores d'aspergillus. On peut faire, à ce sujet, une expérience particulièrement intéressante et probante.

Sur deux liquides nourriciers avec sucre et éléments minéraux, mais l'un avec et l'autre sans acide tartrique, on sème l'aspergillus. Le liquide complet donne une très belle récolte au bout de trois jours. Sur l'autre, le développement est nul ou insignifiant. En revanche, le premier liquide reste limpide, le second se trouble et se peuple d'espèces vivantes et agiles, appartenant au monde des bactéries. Dans le second liquide on ajoute alors de l'acide tartrique. Presque aussitôt, la scène change. Les spores de la mucédinée, jusque-là inertes, ou n'ayant subi qu'un commencement de germination, reprennent le dessus, se développent activement et donnent une récolte aussi belle que dans l'autre liquide. On ne leur a pourtant fourni aucun aliment nouveau, car nous verrons bientôt que si l'acide tartrique est définitivement brûlé, il est à peu près respecté tant qu'il est en présence du sucre. En d'autres termes, les spores ont eu dès l'origine tout ce qu'il leur fallait pour se développer, mais les conditions de milieu n'étaient pas favorables, et leur vie est restée latente jusqu'au moment où ces conditions ont changé.

Il peut même arriver, et il arrive souvent que cette substitution de l'aspergillus aux bactéries se fait, sans qu'on ait besoin d'intervenir, par un mécanisme vital dont il est bon de dire un mot. Le sucre, sous l'influence des ferments qui pullulent dès l'origine dans le liquide neutre, se transforme fréquemment en pro-

duits acides. La vie des ferments leur crée, dans ce cas, un milieu qui leur est défavorable, et qui devient, au contraire, de plus en plus favorable à la mucédinée. Les spores, à un certain moment, deviennent donc tout naturellement capables d'étouffer les espèces qui avaient, tout d'abord, envahi victorieusement le terrain.

Ce qui prouve d'ailleurs que l'acide tartrique agit alors en tant qu'acide, et non pas comme composé hydrocarboné, c'est qu'il peut être remplacé dans ce rôle par un autre acide, tel par exemple que l'acide sulfurique. Seulement, avec ce dernier, il faut diminuer un peu les doses, parce que l'acide sulfurique est mortel à la mucédinée, à la dose de $\frac{1}{500}$ dans le liquide Raulin, peut-être parce qu'il y met en liberté de l'acide nitrique. Mais à la dose de $\frac{1}{1000}$, il est inoffensif, et remplace alors très bien l'acide tartrique.

L'acide tartrique n'agit pas seulement comme acide, il agit aussi comme aliment hydrocarboné. En semant des spores d'aspergillus sur un liquide Raulin sans sucre, on les voit germer, former leur mycélium et leurs spores, subir enfin leur évolution complète. Le mycélium se développe peu, beaucoup moins qu'avec le sucre; il est même quelquefois si réduit, que les filaments sporifères semblent implantés directement sur le liquide. Dans ces conditions, l'acide tartrique est peu à peu brûlé, et disparaît en entier.

On peut donc prévoir que lorsque la mucédinée pousse sur du liquide Raulin complet, contenant du sucre et de l'acide tartrique, elle va peu à peu brûler aussi cet acide. Je me suis assuré qu'il en est, en effet, ainsi; mais la destruction de l'acide tartrique ne commence qu'à la fin de l'expérience, lorsque la plante a poussé, a consommé presque tout le sucre, et lorsque ce sucre devient rare. La plante brûle alors l'acide tartrique, et le milieu où elle a vécu devient tout à fait neutre quand on laisse à l'action le temps de s'épuiser.

Les résultats que M. Raulin a trouvés, en étudiant les effets physiologiques de diverses quantités d'acide tartrique, sont tout à fait d'accord avec ce qui précède. Avec $\frac{1}{1000}$ d'acide tartrique, le milieu a été envahi par des infusoires, et les spores de la mucédinée ne se sont pas développées. A partir de cette quantité minima jusqu'à la proportion de 63 grammes par litre, le poids de la récolte a été à peu près constant, ce qui ne s'expliquerait guère si l'acide tartrique était un aliment comparable au sucre. Au delà de cette limite de 6,3 p. 100 d'acide tartrique, le poids des récoltes diminue et devient à peu près nul pour une proportion d'acide de 25 p. 100, ce qu'il faut attribuer à l'acidité excessive du milieu. Mais la plante pousse encore assez bien dans un liquide renfermant plus de 12 p. 100 d'acide, et c'est là un fait intéressant.

En résumé, l'acide tartrique peut, lorsqu'il est seul, ou qu'il est encore mélangé de faibles doses de sucre, fournir à l'aspergillus les éléments qui lui sont nécessaires, et il y aurait lieu de l'étudier sous ce point de vue, comme nous l'avons fait pour les éléments minéraux, et comme nous allons le faire pour le sucre. Mais dans le liquide Raulin complet, il n'intervient que lorsque la plante est en possession de tous ses organes, et il est alors seulement brûlé, ou même

il peut rester inaltéré si on interrompt l'action à temps, avant la complète disparition du sucre.

Rôle du sucre. — Nous arrivons maintenant au sucre, qui est un des aliments hydrocarbonés de prédilection de l'aspergillus.

Le premier point à noter à son sujet est que nous le fournissons à la plante sous la forme de sucre candi, c'est-à-dire sous forme inassimilable. Ce sucre candi doit d'abord se transformer en glucose, en assimilant les éléments d'une molécule d'eau. Cette transformation est réalisée par l'aspergillus lui-même, qui sécrète, ainsi que nous l'avons dit, une diastase inversive du sucre de canne, à l'aide de laquelle tout le sucre candi est bientôt transformé en sucre incristallisable. Mais si facile que soit cette transformation, elle correspond à une difficulté vaincue, et par suite à une perte de temps. Si l'on met en effet en train, au même moment, deux essais types identiques, mais l'un avec du sucre candi, l'autre avec du glucose, on voit que ce dernier a toujours un peu d'avance sur l'autre, surtout dans les premiers moments.

Une fois transformé, le sucre est mis en œuvre par la plante pendant tout le cycle végétatif, lentement d'abord, rapidement à la fin. Si l'on interrompt l'essai à divers moments, et si l'on compare à chaque fois le poids de plante produite au poids de sucre disparu, on trouve un nombre assez constant qui témoigne à la fois, et de la régularité du phénomène, et de l'importance d'un élément qui paraît ainsi intervenir en proportions définies dans la construction des tissus de la plante.

Ce caractère spécial du sucre se traduit encore dans un autre ordre de faits. Lorsqu'on met en expérience, comme l'a fait M. Raulin, divers liquides avec les mêmes quantités de sels minéraux et d'acide tartrique, mais renfermant des quantités de sucre croissantes depuis zéro jusqu'à 15 grammes par litre, on trouve que le poids de la récolte est à très peu près proportionnel au poids de sucre employé. Il augmente un peu plus lentement que le poids du sucre jusqu'à 12 p. 100 de sucre, et diminue ensuite indéfiniment, à cause du pouvoir osmotique de plus en plus grand de la liqueur.

L'important est qu'à l'origine, le poids de la récolte soit à peu près proportionnel au poids du sucre. Le rapport du poids de plante produite au poids de sucre employé est, dans les limites où la proportionnalité existe, voisin de $\frac{3,2}{10}$ ou de un tiers environ. Nous retrouvons là cette sorte de loi des proportions définies qu'il est surprenant de voir apparaître dans un phénomène aussi complexe, en somme, que la végétation.

Remarquons que ce rapport est voisin de celui que fournit, d'après nos expériences, le liquide Raulin complet. Nous avons vu qu'on pouvait y récolter 25 grammes de mucédinée avec 70 grammes de sucre environ. Nous pouvons donc dire qu'avec 3 parties de sucre nous obtenons environ 1 partie de plante vivante.

Ce rapport, déjà très faible, ne pourrait-il pas être réduit? Rien ne le démontre, bien que, pratiquement, M. Raulin n'ait pu y réussir. Rien ne dit qu'en modifiant convenablement le milieu minéral, en ajoutant au liquide une substance

saline ou organique, on ne changera pas le jeu des assimilations et des combustions, de façon à diminuer les dernières au profit des autres. Vainement on objectera à cette idée le rapport constant que nous avons constaté entre le sucre disparu et le poids de plante produite, à diverses périodes du stade végétatif, car la valeur du rapport, et par suite sa constance, peuvent dépendre de la constitution du milieu, et varier dès lors d'un milieu à un autre.

Cette question n'est pas sans importance. La plante qui consomme du sucre pour ses besoins végétatifs, et qui construit à l'aide de ce sucre ses tissus vivants, peut être assimilée à un animal qui consomme des aliments, et se développe avec ce qu'il en utilise. Envisagés de cette façon, quelques-uns des faits que nous avons découverts présentent un certain intérêt lorsqu'on en fait la synthèse.

Considérons un liquide Raulin privé de zinc, ensemencé par des spores d'aspergillus. Elles vont y germer, y donneront une récolte médiocre, mais n'en consommeront pas moins du sucre, et si on leur en laisse le temps, pourront faire disparaître les 70 grammes de ce corps que renfermait le liquide, en acquérant elles-mêmes un poids de 2gr,5 seulement. C'est ce que nous avons vu plus haut.

Dans ces conditions, évidemment, l'utilisation de la matière alimentaire est médiocre ou même mauvaise, et s'il n'y avait pas de zinc dans la nature, ce rapport, de 2gr,5 de plante produite pour 70 grammes de sucre détruit, serait le rapport maximum auquel nous pourrions théoriquement arriver. Il y a évidemment de très nombreux animaux pour lesquels l'utilisation de la matière alimentaire n'est pas supérieure à ce chiffre.

Ajoutons maintenant à notre liquide Raulin du zinc, substance bien peu alimentaire par elle-même. Tout de suite les choses vont changer, nous obtiendrons 25 grammes de plante pour 70 grammes de sucre disparu. Rien ne dit que nous soyons encore arrivés au maximum, mais on voit combien nous sommes plus avancés que tout à l'heure, et combien notre aliment est maintenant mieux utilisé. La présence de cette faible quantité de zinc a augmenté le poids de matière vivante obtenu avec le même poids de matière morte. Une même quantité d'aliments a produit une plus grande somme d'effets utiles.

Il y a derrière ces questions une question profonde d'alimentation publique que nous ne pouvons qu'effleurer. Nous ne pouvons que faire remarquer combien il serait précieux pour nous d'utiliser notre matière alimentaire comme l'aspergillus utilise la sienne.

Il faut reconnaître, en effet, qu'après être arrivés à produire une partie de plante avec trois parties de sucre, nous approchons d'une limite qu'on ne pourra dépasser. Il est facile de voir qu'il faudra toujours que du sucre se détruise et disparaisse pour que du végétal puisse se développer.

Partons, en effet, de ce fait que le poids de la plante atteint tout au plus le tiers du poids du sucre. La composition du végétal est évidemment très différente de son aliment. Il y a de la matière grasse et de la cellulose provenant du sucre, des matières azotées complexes formées de toutes pièces, par la combinaison de l'azote de l'ammoniaque, avec des matières hydrocarbonées provenant aussi du sucre. Les éléments de celui-ci ont donc subi des groupements nouveaux, dont le détail est malheureusement inconnu, mais dont nous

pouvons apprécier l'ensemble. Or, l'expérience apprend que, quand la plante est faite, elle renferme proportionnellement plus de carbone et moins d'oxygène que le sucre dont elle provient; qu'elle dégagerait en brûlant plus de chaleur qu'un poids égal de sucre, et que, par suite, ses tissus n'ont pu se produire que moyennant la dépense d'une certaine quantité de chaleur. C'est pour se la procurer que la plante a brûlé, aux dépens de l'oxygène de l'air, qu'elle consomme pendant tout son procès de végétation, une partie du sucre qu'elle trouvait dans son liquide nutritif. De ce sucre, une portion a disparu, transformée complètement en eau et en acide carbonique, pour qu'une autre portion pût s'élever à un niveau d'organisation supérieur. Pendant que l'une redescendait la pente, l'autre, plus petite, la remontait, et la création du végétal exigera toujours, par suite, la destruction plus ou moins complète d'une certaine quantité de matière organique combustible.

De plus, il ne s'agit pas seulement de créer le végétal, il faut aussi le faire vivre. Celui-ci n'est pas de ceux qui peuvent faire de la matière organique aux dépens de la lumière solaire. De la double fonction des cellules végétales, création et destruction, il ne possède que la seconde; il a besoin d'aliments tout faits, qu'il décompose d'un bout à l'autre de son existence. De là l'utilité d'une nouvelle dépense, que nous pouvons appeler dépense d'entretien, pour la distinguer de l'autre que nous appellerons dépense de construction. C'est à fournir à cette double dépense que sert le sucre qu'on ne retrouve plus ni sous forme de sucre, ni sous forme de carbone, d'hydrogène et d'oxygène agrégés aux tissus vivants de la mucédinée.

Avec cette idée de corrélation entre la dépense de construction et la dépense d'entretien de certaines cellules, d'un côté, de l'autre avec la quantité de matière alimentaire transformée ou disparue, nous revenons à la définition du mot ferment telle que nous l'avons donnée dans le premier chapitre. Nous creuserons de plus en plus cette définition dans la suite de cet ouvrage; mais déjà nous pouvons la regarder comme résidant surtout dans le rapport entre le poids de matière alimentaire détruite, et le poids de matière vivante entrée en action pendant le phénomène.

Il est difficile de dire pour notre aspergillus, comme pour un ferment quelconque, quelle est la valeur exacte de ce rapport. Il faudrait savoir le poids de sucre mis en œuvre physiologiquement par la plante, et entré dans ses tissus, dans sa constitution. Dans l'ignorance où l'on est de ce point, on ne peut raisonner que par à peu près, mais ce n'est pas faire une hypothèse trop éloignée de la réalité que d'admettre que le poids du sucre est très voisin du poids de la plante. Dans tous les cas, tant que nous parlerons d'une même substance, le sucre, comme ses divers ferments ont des compositions élémentaires très voisines, tous les nombres que nous fournira l'hypothèse que nous venons de faire seront à peu près proportionnels. Nous dirons donc que pour l'aspergillus il faut dépenser trois parties du sucre pour avoir une partie de la plante, et que sur ces trois parties deux seront employées à l'organisation de la troisième. La puissance comme ferment de l'aspergillus niger peut donc se mesurer par le nombre deux.

On voit qu'il n'est pas bien considérable, et, sous ce rapport, on a le droit de

comparer les phénomènes produits par ce végétal microscopique à ceux qui se produisent pendant une certaine période de la vie des plantes supérieures, le moment de leur germination. Là, aussi, nous voyons une plante jeune vivre aux dépens des matériaux nutritifs accumulés dans la graine, consommer aussi l'oxygène de l'air, et si l'on arrête la germination au moment où commence à apparaître le chlorophylle, au moment où la plante va pouvoir utiliser à son aise la chaleur du soleil, on trouve que le poids de la jeune plante est inférieur au poids de l'amidon qu'elle a consommé, qu'elle a dû en brûler une partie pour pouvoir édifier ses tissus au moyen de l'autre, qu'elle a, par conséquent, agi comme un ferment, et que sa puissance, sous ce rapport, est du même ordre que celle de l'aspergillus dont nous venons de tracer l'histoire.

CHAPITRE XVII

MÉCANISME DE LA COMBUSTION DES ALIMENTS HYDROCARBONÉS

Pour ne pas interrompre la marche de notre exposé, nous avons supposé jusqu'ici que la combustion du sucre se faisait en une seule fois, sans stades intermédiaires. Nous allons voir qu'il n'en est pas ainsi, et en étudiant le mécanisme de destruction, non seulement du sucre, mais encore de tous les aliments hydrocarbonés qui peuvent servir de nourriture aux mucédinées, nous rencontrerons des faits curieux qui gagneront à être groupés ensemble.

Combustion du sucre. — Le sucre n'est jamais brûlé, sous l'action de l'aspergillus, sans donner un produit intermédiaire, que j'ai reconnu être de l'acide oxalique. L'acidité du liquide Raulin, pendant la vie de la mucédinée, va en augmentant à mesure que le sucre se consomme, passe par un maximum, et commence à décroître au moment où le sucre commence à devenir rare. A partir de ce moment le sucre et l'acide oxalique sont brûlés concurremment, puis le sucre disparaît le premier, et enfin l'acide oxalique. De sorte qu'à la fin de l'opération, la mucédinée ayant aussi brûlé, comme nous l'avons vu plus haut, l'acide tartrique de la liqueur, celle-ci devient absolument neutre, tous ses éléments hydrocarbonés y ayant disparu.

On observe surtout cette formation transitoire d'acide oxalique dans deux cas: d'abord lorsque la végétation est languissante, réduite à son mycélium, se poursuivant dans de mauvaises conditions de température et de milieu. L'acide oxalique est, il est vrai, produit alors en faibles quantités, mais il représente une proportion plus notable du poids du sucre que dans les conditions ordinaires. On observe aussi une formation transitoire du même acide lorsque, après avoir produit à la surface de la cuvette une épaisse couche de la mucédinée, on remplace le liquide sur lequel elle a vécu par du liquide neuf, sur lequel la combustion commence de suite, mais dans des conditions telles que les filaments de la plante, surtout les filaments mycéliens, serrés les uns contre les autres, n'ont pas à leur disposition tout l'oxygène nécessaire pour brûler l'aliment qui leur est offert.

Dans les deux cas, l'acide oxalique représente comme le résultat d'une com-

bustion imparfaite, et ce fait, de même que sa production aux dépens du sucre a son intérêt quand on songe qu'il se forme abondamment dans les tissus végétaux. L'oxalate de chaux qu'on rencontre aussi quelquefois dans ces tissus résulte sans doute d'un mécanisme secondaire qu'une simple expérience avec l'aspergillus permet de découvrir. Si l'on met un sel de chaux dans le liquide Raulin, l'acide oxalique, qui d'ordinaire est brûlé intégralement, donne de l'oxalate de chaux en beaux octaèdres, que leur insolubilité protège contre toute combustion nouvelle. C'est évidemment par un mécanisme analogue que l'oxalate de chaux se dépose dans les plantes qui en contiennent.

Nous avons vu dans le chapitre précédent qu'on observait cette formation d'oxalate de chaux avec un grand nombre de matières alimentaires. Je me suis assuré en effet qu'on en obtenait avec tous les éléments hydrocarbonés susceptibles de nourrir l'aspergillus. Voici le résumé des observations que j'ai faites sur ce sujet.

Combustion des aliments hydrocarbonés. — Pour des raisons que nous allons apprendre tout à l'heure, il faut faire les essais en produisant d'abord sur une cuvette une couche florissante d'aspergillus à l'aide de liquide Raulin, siphonnant alors le liquide, et le remplaçant par une dissolution de la matière alimentaire hydrocarbonée que l'on veut étudier.

De l'empois d'amidon ainsi traité se liquéfie d'abord, puis se saccharifie. En fin de compte, maltose et dextrine sont brûlées, et il reste un liquide limpide ne renfermant en suspension que de très petits cristaux losangiques d'oxalate de chaux. La saccharification de l'amidon n'exige la production, de la part de l'aspergillus, d'aucune diastase nouvelle, car il sécrète de l'amylase, même lorsqu'il n'a que du sucre pour aliment. Mais comme il ne reste aucune trace dans le liquide de l'enveloppe de cellulose des grains d'amidon, que l'amylase ne peut dissoudre, comme nous l'avons vu, il faut bien que le végétal sécrète à un certain moment, pour son alimentation nouvelle, la diastase digestive dont il a besoin.

Tous les amidons ne sont pas brûlés avec la même facilité, à cause de leurs proportions différentes de cellulose. L'amidon de riz, qui en renferme proportionnellement beaucoup, résiste mieux que la fécule, mais il finit aussi par être brûlé complètement.

La glycérine est aussi brûlée intégralement, avec production transitoire d'acide oxalique. Il en est de même de la mannite et du sucre de lait.

Avec l'alcool, l'aspergillus se comporte comme avec le sucre; il le brûle, sans le faire passer à l'état d'acide acétique, mais en s'arrêtant partiellement à l'acide oxalique, qu'il attaque à son tour quand l'alcool commence à être en trop petite quantité.

L'acide acétique lui-même est brûlé intégralement avec production transitoire, très abondante, d'acide oxalique.

On voit, en résumé, que la plante peut servir d'agent comburant pour une foule de substances de compositions très différentes, et de molécules très inégalement complexes, depuis la cellulose jusqu'à l'acide oxalique. Tous ces aliments si divers ne lui sont pas indifférents; il en est qu'elle préfère et qu'elle brûle

les premiers, pour s'adresser ensuite à ceux qui lui conviennent moins, et son alimentation résulte par suite d'un mécanisme compliqué, dans lequel interviennent non seulement les questions de nature de l'aliment, mais encore, comme le prouve l'exemple de la combustion concomitante de l'acide oxalique et du sucre, les questions que, dans l'ancienne chimie, on appelait les questions de masse. Nous y verrons bientôt intervenir une question nouvelle, celle du pouvoir rotatoire, mais nous avons d'abord une remarque importante à faire.

La plupart des substances que nous venons de mentionner comme pouvant, lorsqu'on les offre à une végétation d'aspergillus déjà formée et florissante, la faire vivre et augmenter de poids, lui servir d'aliment en un mot, sont tout à fait incapables de servir à son développement quand on les substitue au sucre dans un liquide Raulin, à la surface duquel on sème des spores. En présence de l'acide oxalique, de l'acide acétique, de l'alcool, de la mannite, de la cellulose, même du sucre de lait, ces spores restent inertes ou ne poussent que des filaments mycéliens très courts, dont la croissance s'arrête presque aussitôt.

Cette impuissance provient sans doute de causes diverses : pour la cellulose, il est probable qu'elle agit surtout par son insolubilité. Elle peut être liquéfiée par la plante, mais par la plante déjà adulte, et quand il s'agit de spores, il se fait un cercle vicieux dont la plante ne peut sortir.

Mais cette raison n'existe pas pour l'alcool, la mannite, l'acide acétique, solubles dans l'eau et assimilables en dehors de toute action de diastases. De là deux conséquences, l'une théorique, l'autre pratique.

La conséquence théorique, tout à fait d'accord avec les considérations que nous avons développées au chapitre précédent, est que ces substances, en brûlant, peuvent encore développer assez de chaleur pour servir à la nutrition d'organes déjà formés, et même en augmenter le poids vivant, mais qu'elles sont incapables de donner en même temps la quantité de chaleur que nous avons reconnue nécessaire à l'édification des tissus de la jeune plante, de servir, en un mot, à la fois à la nutrition et à la reproduction. Nous sommes autorisés à y voir ce que nous avons appelé précédemment des matériaux d'entretien, mais point des matériaux de construction. Il faut à la jeune plante quelque chose de plus qu'à la plante déjà faite, et ce quelque chose nous sommes autorisés à le chercher, non dans les matériaux minéraux que nous savons être suffisants, mais dans un défaut de qualité dans la substance hydrocarbonée, défaut de qualité qu'on ne saurait remplacer par un excès de quantité, pas plus qu'on ne saurait nourrir un animal en lui donnant en abondance une substance non alimentaire.

Sans doute la distinction que nous venons d'établir expérimentalement entre les aliments d'entretien et les aliments de construction n'est pas absolue. Dans la nature, les deux fonctions que nous avons séparées, pour obéir à un des besoins de l'esprit humain qui n'arrive à la synthèse que par l'analyse, sont confondues l'une avec l'autre. Mais il suffit que l'expérience nous montre des aliments comme le sucre, dans lequel elles sont toutes deux en puissance, et d'autres comme l'alcool, où il n'y en a guère qu'une de possible, pour que nous soyons autorisés à les distinguer. Notons tout de suite qu'il y a dans l'alcool moins d'énergie que dans le sucre, en prenant ce mot énergie dans le sens qu'il

a dans la théorie mécanique de la chaleur. C'est ce que nous montrerons à propos de la fermentation alcoolique.

Au point de vue pratique, ces phénomènes conduisent en outre à une conclusion intéressante. Un substratum de cellulose, qui est incapable à lui seul de faire pousser une mucédinée, peut parfaitement être détruit par elle, lorsqu'il est accompagné d'une autre substance pouvant servir à son développement. Du bois inaltérable par les moisissures est peu à peu corrodé et détruit par elles, lorsqu'il est imprégné d'une substance organique, qui en favorise à la fois la production et la reproduction. En fait, les êtres inférieurs finissent par avoir raison de tout, même des matériaux qui paraissent les plus impropres à leur nutrition. Et dans cette œuvre de destruction les mucédinées sont particulièrement actives, parce que, vivant au contact de l'air et y puisant de la force sous forme d'oxygène, elles n'ont pas besoin d'en emprunter, comme nous verrons que le font les ferments vrais, aux matériaux aux dépens desquels elles vivent.

Tous les résultats que nous avons énumérés jusqu'ici se rapportent à l'aspergillus niger. Aucune autre mucédinée n'a été étudiée avec autant de soin et de précision. Pourtant on a, à propos de quelques espèces, des renseignements épars, mais intéressants, et qui trouvent tout naturellement leur place ici.

Aspergillus glaucus. — M. Gayon a étudié un autre aspergillus sans doute identique à celui que nous avons rencontré au chapitre précédent. Il a constaté qu'à la température de 25°, et sur du liquide Raulin, cet aspergillus poussait à peu près trois fois plus vite que l'aspergillus niger, ce qui prouve, à la fois, qu'il s'accommode du même aliment minéral et hydrocarboné, et qu'il n'exige pas les mêmes conditions de température.

M. Gayon a vu en outre que son aspergillus faisait plus rapidement disparaître l'acidité de la liqueur que l'aspergillus niger. Mais c'est une différence du plus au moins qui est sans grande importance. Je me suis assuré que dans les deux cas, le mécanisme de l'action était le même, et qu'il y avait toujours formation passagère d'acide oxalique qui, dans les conditions dans lesquelles a opéré M. Gayon, était brûlé plus rapidement, parce qu'il était en contact avec un poids plus notable de plante.

Penicillium glaucum. — Toutes les fois qu'on met une culture, même florissante, d'aspergillus niger, au contact d'un élément hydrocarboné de difficile digestion, on peut être assuré de voir apparaître, au bout de quelques jours, le pénicillium glaucum, qui se développe d'abord aux bords de la cuve, et en envahit bientôt toute la surface. Les spores de cette mucédinée sont présentes partout, et on se l'explique, car le fait que nous venons de constater témoigne qu'elle est beaucoup moins délicate sur le choix de ses aliments hydrocarbonés que l'aspergillus niger, qui lui-même est une des mucédinées les moins difficiles.

Ce même fait témoigne encore de ce que prouve aussi l'expérience directe, que le milieu minéral du liquide Raulin convient très bien au pénicillium. J'ai trouvé pourtant que le végétal poussait mieux lorsqu'on y ajoute un sel de chaux en petites quantités.

La diffusion de cette mucédinée fait qu'elle est intervenue dans une foule de phénomènes et qu'on a eu fréquemment l'occasion d'étudier les résultats de son action. Mais les travaux où l'on s'est préoccupé de sa pureté sont rares, et ceux-là seuls ont de l'intérêt pour nous. Nous allons y voir apparaître un fait nouveau d'une importance capitale, l'intervention de la dissymétrie moléculaire dans un phénomène de nutrition.

Décomposition de l'acide racémique par le pénicillium glaucum. — M. Pasteur a fait voir, en 1860, qu'en semant, sur de l'eau qui ne renfermait absolument que de l'ammoniaque et des phosphates comme aliment minéral, et de l'acide racémique comme aliment hydrocarboné, des spores de pénicillium, on les voyait se développer et fructifier, quoique péniblement. Si l'on étudie la liqueur pendant le cours de la vie de la petite plante, on y trouve de l'acide tartrique gauche en quantité considérable, de sorte que le pénicillium dédouble l'acide racémique en acide droit et en acide gauche, et consomme d'abord le premier.

Si on laisse, en effet, l'expérience se continuer, l'acide gauche est attaqué à son tour. Si la plante est prospère, les deux phénomènes s'accompagnent et marchent à peu près du même pas, de sorte que l'acide racémique semble être brûlé en masse, sans dédoublement préalable. Ces deux faits témoignent que les deux acides droit et gauche sont *à peu près* aussi assimilables l'un que l'autre, et qu'il est utile pour les séparer, de s'adresser à une végétation peu active. Quelques essais dans cette direction m'ont semblé prouver que le dédoublement est surtout opéré par les filaments mycéliens, et que lorsque les organes aériens entrent en action, ils vivent à peu près indifféremment aux dépens des deux acides tartriques. Mais ces particularités n'enlèvent rien à l'importance du fait découvert par M. Pasteur, et où nous voyons intervenir la dissymétrie moléculaire, dans les phénomènes de la vie, comme modificateur puissant des affinités chimiques. Nous verrons un nouvel exemple de ce fait lorsque nous étudierons spécialement la fermentation de l'acide racémique, qui peut aussi être dédoublé par un vibrion en acide droit et gauche, dont le premier est encore consommé de préférence à l'autre. Ce dernier exemple est même historiquement le premier en date, car il a été publié en 1858. Il en a été trouvé depuis un certain nombre d'autres, dont nous ne citerons ici que ceux où interviennent des mucédinées.

Travaux de M. Le Bel. — M. Le Bel a étudié l'action des moisissures sur trois produits organiques possédant le pouvoir rotatoire : l'alcool amylique, le méthylpropylcarbinol, et le propylglycol.

Le pénicillium pousse assez bien sur un liquide contenant, par litre, 3 grammes d'alcool amylique et 1^{gr},25 de sels minéraux divers. Quand, au bout de quelques semaines, la végétation verte, d'abord très prospère, semble dépérir, on sépare par distillation l'alcool amylique restant. On constate alors qu'il y a une perte sur celui qu'on avait introduit, et que de lévogyre, il est devenu sensiblement dextrogyre. La meilleure manière d'interpréter ce résultat est évidemment d'admettre un dédoublement dans lequel l'alcool gauche serait détruit; l'alcool

droit respecté; c'est, on le voit, le contraire de ce qui a lieu pour l'acide racémique.

Voici, au contraire, qui rappelle l'action sur cet acide : M. Le Bel introduit 100 grammes de méthylpropylcarbinol, bouillant entre 116 et 120°, dans 20 litres d'eau additionnée de 24 grammes d'acide sulfurique et de divers sels. Il ne faut pas ajouter de nitrates, car la réduction de l'acide nitrique en ammoniaque diminue trop rapidement l'acidité. Le tout est renfermé dans des flacons de 8 litres, demi-pleins, fermés par une simple feuille de papier à filtrer. La surface, après ensemencement, se couvre de plaques de pénicillium, d'une belle couleur rose, dont le mycélium est très émacié, le protoplasma condensé en granules réfringents, et qui n'arrivent que péniblement à la fructification.

On laisse à cette végétation languissante quelques mois pour agir, au bout desquels on distille. On parvient à isoler une couche huileuse qui, rectifiée sur de la potasse, et convenablement fractionnée, passe entre 116 et 120°, et a un pouvoir rotatoire très net à gauche, dont la valeur est malheureusement incertaine, car il n'est pas sûr qu'il ne reste pas encore un peu du méthylpropylcarbinol initial. Quoi qu'il en soit, on voit que celui-ci est nettement dédoublé, comme l'acide racémique, en un corps droit qui est consommé, et un corps gauche qui reste.

Une expérience analogue, mais moins nette, a été faite avec le propylglycol, en solutions à 3 p. 100, additionnées de sels minéraux et de carbonate de chaux précipité. Cette fois, les espèces actives sont restées plus incertaines. M. Le Bel signale un aspergillus, un pénicillium qui a poussé sur un liquide un peu acide, une espèce qu'il assimile, sans raisons bien apparentes, au *bacterium termo* d'Ehrenberg, et qui pousse toujours sur le propylglycol bien purifié, enfin deux bacillus indéterminés. Ce phénomène semble pouvoir s'accomplir indifféremment sous l'influence de ces espèces diverses. L'important est qu'il y ait toujours vie difficile et oxydation incomplète, c'est à quoi on arrive en opérant dans des flacons presque bouchés, et en empêchant, par une agitation fréquente, les mucédinées de fructifier, ou les bactéries de former couche au contact de l'air.

Quand les végétations ont agi plusieurs mois, on filtre le liquide et on rectifie dans un appareil à colonne. Quelle que soit la culture, on isole un produit ayant une rotation gauche. Mais ce sont les moisissures qui donnent les meilleurs résultats.

Tous ces résultats sont évidemment bien incomplets et mériteraient d'être suivis de plus près, mais ils mettent en évidence cette propriété de certaines cellules vivantes, et probablement de toutes, de se préoccuper de la constitution moléculaire de leurs aliments. Rappelons, pour montrer l'intérêt de cette constatation, que tous les principes connus comme possédant la dissymétrie moléculaire, sont exclusivement produits sous l'influence de la vie végétale ou animale; qu'il n'en existe aucun, provenant de la nature minérale ou de réactions artificielles, qui n'y soit accompagné de son congénère, et que là encore, nous retrouvons l'analogie déjà tant de fois signalée entre les cellules des infiniment petits et des êtres supérieurs.

Nous terminerons par une remarque. Nous venons de voir les mucédinées

consommer de préférence les corps droits. En se rappelant que dans les raisins, on trouve surtout l'acide tartrique droit, et quelquefois l'acide racémique, il semble, d'un autre côté, que l'acide droit qu'on y rencontre le plus souvent soit le résidu d'une combustion d'acide racémique dont le corps gauche a été brûlé par la cellule végétale. Si l'on généralise ces deux faits, on peut croire que les cellules des végétaux fournissent des corps droits, celles des infiniment petits, surtout des corps gauches, ce qui impliquerait une sorte d'antagonisme. Mais la distinction n'est pas absolue. Les diverses albumines végétales et animales sont gauches. Nous verrons, d'un autre côté, qu'aux dépens des matières albuminoïdes peuvent prendre naissance des composés non azotés, tels que de la cellulose, de l'acide oxalique et des acides gras, et que cette transformation peut être réalisée par des cellules vivantes, dont l'analogie générale de propriétés dans tout le monde vivant n'est pas contestable.

Dès lors il se présente une explication de la formation des corps droits différente de celle que nous venons d'indiquer. Il pourrait se faire que l'acide tartrique droit résultât, non de la combustion de la moitié gauche de l'acide racémique, mais de la combustion incomplète de la moitié droite de l'albumine du jus de raisin, donnant naissance, ainsi que cela arrive presque toujours en chimie, à des dérivés ayant même pouvoir rotatoire qu'elle-même. C'est là une conclusion assez en rapport avec l'ensemble des phénomènes connus pour qu'il soit bon de la signaler ici comme en constituant une sorte de synthèse.

BIBLIOGRAPHIE

U. Gayon. — Développement comparatif de l'aspergillus glaucus et de l'aspergillus niger. *Mémoires de la Société des sciences physiques et naturelles de Bordeaux*, t. I.

Pasteur. — Mémoire sur la fermentation de l'acide tartrique. *Comptes rendus*, t. XLVI, 1858.

— Note sur le penicillium glaucum et la dissymétrie des produits organiques naturels. *Comptes rendus*, t. LII, 1860.

Le Bel. — Recherches sur l'alcool amylique. *Comptes rendus*, t. LXXXVII, 1878.

— Sur le méthylpropylcarbinol synthétique, résidu actif par les moisissures. *Comptes rendus*, t. LXXXIX, 1879.

— Sur le propylglycol actif. *Comptes rendus*, t. XCII, 1881.

CHAPITRE XVIII

COMBUSTION DU TANNIN PAR LES MUCÉDINÉES

Les substances hydrocarbonées étudiées au chapitre précédent ne sont pas les seuls aliments carbonés de l'aspergillus niger et du pénicillium glaucum. On peut faire vivre ces deux plantes sur une solution de tannin pur, additionnée de $\frac{1}{1000}$ de nitrate d'ammoniaque et de cendres de levure, contenue en large surface et en faible épaisseur dans un cristallisoir ou une cuvette de porcelaine. Leur croissance est aussi très rapide, et en six ou sept jours l'expérience est terminée. Le tannin a alors à peu près disparu. Le poids de plante formée peut atteindre le quart du poids du tannin détruit. L'absorption d'oxygène est considérable. C'est, en envisageant le phénomène en gros, l'image fidèle de ce que nous avons vu avec le sucre dans les expériences de M. Raulin.

Mais il peut exister ici un stade intermédiaire dans l'œuvre de destruction, correspondant à la production d'acide oxalique pendant la combustion du sucre. La facilité avec laquelle on retire l'acide oxalique de certains végétaux enlève tout intérêt pratique et industriel à sa formation par les mucédinées. La combustion incomplète du tannin, au contraire, forme la base d'une industrie importante, celle de la fabrication de l'acide gallique. Nous allons l'étudier en faisant l'histoire de la fermentation du tannin.

FERMENTATION DU TANNIN

Historique. — Scheele a le premier montré, en 1786, que les noix de galle, pourrissant à l'air libre, donnaient un acide qu'il a appelé l'*acide gallique*. Il avait supposé que cet acide existait tout formé dans la noix, et que la fermentation ne faisait que le mettre en évidence en détruisant les matières qui le masquaient. Pelouze montra, en 1833, que l'acide gallique ne préexiste pas, ne se forme que lorsque la matière a le contact de l'air, et il fut ainsi tout naturellement conduit à en attribuer la formation à une oxydation. Ce qui semble

confirmer cette idée, c'est que quelquefois la dissolution de tannin, conservée à l'abri de l'air, se conserve indéfiniment.

Robiquet, en 1837, observa au contraire que la transformation s'opérait en vases clos. Il rejeta, par suite, l'action de l'air comme cause, mais comme il en fallait une, il la chercha dans « des principes qui facilitent la réaction et servent, pour ainsi dire, de *ferment* ». Les travaux de Laroque (1841), de Ed. Robiquet (1853), ont laissé la science hésitante entre ces deux idées d'oxydation lente ou de ferment soluble, jusqu'au moment où la cause et le mécanisme du phénomène ont été éclairés par M. Van Tieghem (1868).

Point de mucédinée, point d'acide gallique. — M. Van Tieghem commença par montrer que des dissolutions de tannin se conservaient indéfiniment, lorsqu'on en chassait l'air, soit sous l'action du vide, soit par un courant d'acide carbonique, et qu'on maintenait bien bouché le flacon ainsi traité. Donc, le tannin ne se transforme pas à l'abri de l'air.

Il ne se transforme pas davantage lorsqu'il est exposé au seul contact de l'air. Dans des ballons à col sinueux, comme ceux de la fig. 22, une infusion de noix de galle, bouillie et mise à refroidir dans le ballon, à l'abri des poussières de l'air, ne subit aucune transformation.

Toutes les fois que dans une solution de tannin se forme de l'acide gallique, on y voit apparaître, soit ensemble, soit séparément, deux formes mycéliennes que l'on peut distinguer à l'œil nu dès l'origine. L'une est en flocons sphériques très denses, à reflets irisés, formés de filaments très minces, s'accroissant très régulièrement autour d'une spore placée au centre ; c'est le mycélium du pénicillium glaucum. Une autre est formée de flocons d'abord sphériques, mais beaucoup moins serrés et sans chatoiement, composés de filaments rayonnants plus gros et à développement moins régulier, de sorte que le flocon ne reste pas sphérique.

Pour ne pas rester soumis au caprice et au hasard des ensemencements atmosphériques, on fera bien d'introduire, dans la solution de tannin qu'on veut faire fermenter, quelques spores de l'une de ces deux plantes. Le phénomène prend alors une grande régularité. Les flocons du mycélium envahissent peu à peu tout le liquide, et il se dépose, dès les premiers jours, sur les parois du flacon, des cristaux d'acide gallique qui augmentent de plus en plus.

Conditions de nutrition du ferment. — La formation de l'acide gallique nous apparaît donc comme corrélative de l'existence et du développement, dans la solution du tannin qui fermente, d'une ou deux formes végétales déterminées. Partant de là, on peut prévoir que tout ce qui favorisera ou entravera la formation du mycélium favorisera ou entravera la fermentation du tannin.

Ces plantes ont besoin, par exemple, d'aliments minéraux. Si ces aliments manquent, pas de mycélium et pas d'acide gallique. Introduites dans une solution aérée de tannin parfaitement pur dans de l'eau distillée, les spores ne se développent pas, et le tannin demeure inaltéré. Dans une solution de tannin du merce, la germination est possible et la fermentation suit son cours, mais

elle est infiniment plus lente que dans une décoction de noix de galle, qui contient en abondance, outre du tannin, des principes minéraux ou azotés. On peut activer la transformation du tannin du commerce, en ajoutant à sa solution du nitrate d'ammoniaque et des phosphates. Tous ces faits découlent de la même source et nous n'insistons pas.

Nous ne ferons aussi, pour abréger, que viser les expériences dans lesquelles en ajoutant à la liqueur un antiseptique, un peu d'alcool absolu, de créosote, d'acide phénique, on arrête la croissance du mycélium et la fermentation qu'il produit.

Action de l'air. — L'action de l'air mérite de nous arrêter plus longtemps. Le mycélium de l'aspergillus et du pénicillium a besoin d'un peu d'air pour végéter. Si on le lui supprime, si l'on bouche hermétiquement le flacon en fermentation, la transformation s'arrête aussitôt qu'a disparu l'oxygène dissous. Pelouze avait donc raison, mais pour une cause qu'il ignorait; il faut de l'oxygène pour la transformation du tannin, mais l'oxygène ne suffit pas, les spores et le mycélium sans oxygène ne suffisent pas non plus, il faut le concours d'une spore qui germe et de l'air qui la nourrit.

Le mycélium qui se forme a toujours un poids très faible. Lorsqu'on le maintient dans les couches profondes de la liqueur, et qu'on empêche ainsi la fructification superficielle, son poids à l'état sec atteint ordinairement 10 milligrammes pour 10 grammes de tannin détruit, c'est-à-dire qu'il n'en est que le millième et quelquefois moins encore.

La quantité d'oxygène dont a besoin ce mycélium ne peut pas être considérable. D'une des expériences de M. Van Tieghem, on peut conclure qu'elle est à peu près la moitié du poids du mycélium produit, et, par suite, le $\frac{1}{2\,000}$ du tannin transformé.

Il résulte de ces nombres, au point de vue pratique, qu'il suffira de très petites quantités d'air, dissous dans le liquide ou filtrant à sa surface au travers d'un bouchon mal fermé, pour que le mycélium se développe et amène dans le tannin une fermentation appréciable. C'est ce qui nous explique comment Robiquet a pu croire que la conversion pouvait se faire à l'abri de l'air.

Au point de vue théorique, on voit qu'il ne peut être question d'une oxydation du tannin avec d'aussi faibles quantités d'air mises en œuvre. D'autre part il n'y a pas de dégagement gazeux, c'est-à-dire pas de fermentation véritable. La faible quantité d'oxygène absorbé par le mycélium est transformée en un volume égal d'acide carbonique. On peut donc s'attendre à retrouver dans le liquide, sous une autre forme, la presque totalité du tannin disparu.

C'est, en effet, le résultat auquel conduisent les expériences de M. Van Tieghem. Outre l'acide gallique, il a retrouvé dans le liquide du glucose, et l'ensemble de ces deux corps équivaut à peu près en poids au tannin détruit.

Chimie de la réaction. — Mais au sujet de l'interprétation à donner à ces phénomènes, nous sommes conduits à nous séparer de ce savant. La formule de la réaction qu'il propose a cessé d'être exacte, depuis qu'on connaît

mieux la composition du tannin et celle de l'acide gallique. Le tannin pur et l'acide gallique ne diffèrent que par un équivalent d'eau.

$$C^{14}H^{5}O^{9} + HO = 2C^{7}H^{3}O^{5}.$$

Il n'y a pas place pour la formation de glucose, et la transformation de ce tannin est un dédoublement avec adjonction d'une molécule d'eau.

D'où vient donc le glucose que l'expérience découvre dans les dissolutions de tannin fermentées ? Uniquement, sans doute, de ce que le tannin de la noix de galle est un glucoside dédoublable en glucose et en tannin réel. Ce tannin est dédoublé, et le glucose entre en solution dans le liquide.

Ce qui confirme cette interprétation, c'est que les formules proposées pour le le tannin, l'une par Pelouze et Liebig, les autres par M. Strecker, s'obtiennent en ajoutant à de l'acide gallique des proportions différentes de glucose.

On a, en effet, en adoptant la formule de Pelouze et Liebig, $C^{18}H^{8}O^{12}$

$$3C^{18}H^{8}O^{12} + 6HO = 6C^{7}H^{3}O^{5} + C^{12}H^{12}O^{12}$$

et en adoptant celles de Strecker, l'une, $C^{40}H^{18}O^{26}$, donne

$$C^{40}H^{18}O^{26} + 6HO = 4C^{7}H^{3}O^{5} + C^{12}H^{12}O^{12}$$

L'autre

$$C^{27}H^{22}O^{17} + 4HO = 3C^{7}H^{3}O^{5} + C^{12}H^{12}O^{12}.$$

Pelouze et Liebig d'un côté, Strecker de l'autre, avaient sans doute opéré sur deux tannins différents, qui, soumis à la fermentation, auraient donné des proportions différentes de tannin et de glucose, et ils n'ont connu ni l'un ni l'autre le tannin pur qui n'en donnerait pas du tout.

Tout ceci montre que ce qu'il y a d'essentiel dans la réaction est la formation de l'acide gallique. Le glucose est un produit secondaire qui peut exister ou ne pas exister. Or, cette formation d'acide gallique est le résultat d'une hydratation, qui se produit d'ordinaire sous l'action des diastases. Il est donc probable que si le mycélium agit, c'est en sécrétant une diastase. M. Van Tieghem, il est vrai, l'a cherchée et ne l'a pas trouvée, mais il l'a cherchée dans le mycélium en plein fonctionnement. C'est dans le liquide après fermentation qu'on a le plus de chances de la rencontrer.

On pourrait croire que pour se décider entre ces interprétations diverses il suffirait de faire un dosage de glucose et d'acide gallique dans la liqueur. Mais outre qu'on ne sait jamais de quel tannin on est parti, il y a toujours des pertes dues aux matériaux consommés par la plante.

Phénomènes consécutifs au dédoublement du tannin. — Ce n'est en effet qu'à la condition de faire l'analyse du liquide aussitôt qu'on voit que la quantité d'acide gallique est stationnaire, qu'on trouve l'égalité approchée de poids que nous signalions plus haut entre le tannin et ses produits de fermentation. Lorsqu'on laisse le liquide à l'étuve, le mycélium continue à se développer au fond du vase, et en même temps la quantité de glucose que renfermait la liqueur diminue progressivement. Quand il a disparu, l'acide

gallique est attaqué et disparaît à son tour. Le mycélium brûle, en dernière analyse, les deux éléments du tannin dédoublé, et on peut penser *a priori* que c'est pour s'en nourrir qu'il les prépare.

Sous ce rapport, il ressemble au mycélium dédoublant l'acide racémique en acides dextrogyre et lévogyre avant de le brûler. Si un de ces acides se précipitait, on aurait là l'image de la fermentation gallique. Si cet acide précipité était un produit industriel, l'opération aurait fixé depuis longtemps l'attention. Tout ce qu'il y a de particulier avec le tannin est donc que le dédoublement, quand on n'a affaire qu'aux filaments mycéliens, précède de longtemps la combustion, mais on peut, comme nous allons le voir, précipiter les phénomènes.

Action de la végétation superficielle. — Nous avons jusqu'ici, dans toutes nos expériences, évité avec soin la végétation superficielle du mycélium. Laissons au contraire la plante s'étaler à la surface du liquide et y former une membrane continue, bientôt couverte d'innombrables fructifications, nous la verrons brûler rapidement et directement le tannin, en exhalant de grandes quantités d'acide carbonique. Il ne se fait de dédoublement que celui qui correspond au faible développement des parties plongées du mycélium, et, des produits de ce dédoublement, le glucose disparaît toujours le premier. Mais aussitôt que la surface est entièrement couverte par le champignon en voie de fructification, il n'arrive plus d'oxygène aux flocons profonds; ils cessent alors de se développer et d'agir, le dédoublement cesse, et la plante n'agit plus que par combustion directe.

Le poids de plante formée est alors considérable, un quart du poids du tannin détruit, comme nous l'avons vu. C'est l'image fidèle de ce qui existe pour le sucre, et d'un bout à l'autre des deux phénomènes, qu'ils se fassent avec lenteur ou rapidité, les analogies sont tellement évidentes que nous n'insistons pas davantage.

Industrie de l'acide gallique. — Tous ces faits permettent aux fabricants d'acide gallique de s'éclairer sur les pratiques de leur industrie. Pour obtenir l'acide gallique, ils exposent les noix de galle entières à une température de 25 à 30° pendant un mois, en ayant soin de les humecter de temps en temps et de remuer de fond en comble la masse. Les noix gonflent; après quelque temps de fermentation silencieuse, il se produit un dégagement de gaz. Lorsqu'il est terminé, on juge la fermentation achevée, et on retire l'acide gallique en profitant de sa solubilité à chaud.

On devine ce qui se produit. Les noix de galle apportent d'ordinaire avec elles les germes des végétations cryptogamiques qui doivent les transformer. Celles-ci, à la température de la fermentation, donnent un mycélium qui empâte la masse et y produit le dédoublement que nous connaissons. Le danger de voir le mycélium fructifier et brûler le tannin en pure perte est conjuré par la pratique inconsciente de remuer tous les jours la masse à fond, de façon à immerger dans le liquide tous les filaments sporifères qui tendent à se former à sa surface.

Tout ce travail est invisible et ne se manifeste à l'œil par aucun phénomène apparent. Lorsqu'il est terminé, on pourrait retirer l'acide gallique, mais on

serait gêné par le glucose formé en même temps, qui se dissoudrait avec l'acide, et empêcherait sa cristallisation. Heureusement ce glucose fermente d'ordinaire de lui-même, à la fin de l'opération, lorsqu'il ne reste plus de tannin qu'une dose trop faible pour coaguler le protoplasma du globule de levure, plus sensible à l'action du tannin que le protoplasma de l'aspergillus. Les germes de la levure sont apportés par l'air ambiant ou les parois des vases où se fait la fermentation. Quand ils manquent et que le dégagement gazeux qu'attend le fabricant ne se produit pas, il le provoque en ajoutant un peu de levure de brasserie.

La fermentation gallique, pour lui, n'est donc réellement achevée que lorsque le sucre a disparu, laissant à nu l'acide gallique facile désormais à extraire et à purifier. Comme cette disparition du sucre est le seul phénomène qui se manifeste à l'extérieur par le dégagement gazeux, le fabricant prend ce dégagement pour apprécier l'état de la fermentation gallique. Pour lui, elle commence quand la masse pâteuse se soulève et gonfle. Le temps considérable qui s'écoule jusque-là, et pendant lequel la masse reste affaissée et inerte, est jugé nécessaire à la destruction par l'eau des tissus de la noix et à la formation de la pâte. La fermentation gallique est en pleine activité quand la masse fortement boursoufflée dégage beaucoup d'acide carbonique et de vapeurs alcooliques. Elle est terminée quand la masse retombe et que les petits cristaux d'acide gallique, débarrassés de l'enduit qui les empâtait, brillent à l'œil. En un mot, on mêle et on confond dans l'industrie deux fermentations distinctes, qui se succèdent dans la même cuve : la première, la plus méconnue, qui donne l'acide gallique; la seconde qui le débarrasse d'un élément qui nuirait à son extraction.

C'est sur la première fermentation que les fabricants doivent porter leur attention s'ils veulent augmenter le rendement en acide gallique. La noix de galle qu'ils emploient renferme de 44 à 66 p. 100 de tannin, pouvant donner, en acide gallique, entre le tiers et la moitié du poids de la noix de galle, si on conduit la fermentation d'après les lois que nous venons d'exposer. Or, dans l'industrie, on n'obtient guère plus de un cinquième du poids des noix employées. Le reste est perdu par suite de combustions superficielles, que le fabricant évitera, quand il voudra, en se rapportant à ce que nous avons dit plus haut.

BIBLIOGRAPHIE

Scheele. — *Opuscula*, t. II, p. 224 (1785).
Pelouze. — *Annales de chimie et de physique*, t. LIV, p. 337, 1833.
Robiquet. — *Ann. de ch. et de phys.*, t. LXIV, p. 385, et *Journal de pharmacie*, février 1839.
Strecker. — *Ann. der chemie und pharmacie*, t. LXXXI, p. 247.
Van Tieghem. — *Ann. des sc. naturelles*, 5e série, t. VIII, 1868.

CHAPITRE XIX

TRANSITIONS ENTRE LES MUCÉDINÉES ET LES LEVURES

Nous venons de voir un changement physiologique, dans les fonctions de l'aspergillus et du pénicillium, survenir à la suite d'un changement dans les conditions d'existence. Nous allons en trouver de plus profonds dus aux mêmes causes, et qui vont nous amener peu à peu, par degrés insensibles, de ces végétaux microscopiques qui vivent au contact de l'air, et sont d'ordinaire de purs agents de combustion, aux levures véritables qui vivent immergées dans les profondeurs d'un liquide, et donnent de l'alcool aux dépens du sucre.

Cette modification dans les propriétés des mucédinées entraîne-t-elle une modification dans la nature de l'espèce, et s'accompagne-t-elle d'une transformation véritable du pénicillium en levures? On l'a cru pendant longtemps, il est vrai sur la foi d'expériences grossières, qui consistaient à ensemencer des spores de mucédinées dans un liquide sucré où l'on voyait bientôt apparaître la fermentation et des globules de levure, ou bien encore à exposer à l'humidité un petit paquet de levure, sur lequel on voyait bientôt naître des touffes de mucédinées. Au point où nous en sommes arrivés, il n'est plus nécessaire d'insister sur les causes d'erreur de ces expériences. Répétons-les avec les précautions dont nous connaissons la nécessité et l'usage, et nous allons en voir sortir des conclusions tout autres.

Pour cela, M. Pasteur fait l'ensemencement sur un liquide contenu dans un ballon à deux cols (fig. 36). L'un est droit et fermé à sa partie supérieure par un bouchon de caoutchouc et un tube de verre plein. L'autre, effilé, est recourbé en col de cygne, et fermé à sa partie inférieure par un tampon d'amiante, qui empêche l'entrée des poussières sans gêner la circulation de l'air.

On introduit dans ce ballon du moût de bière qu'on fait bouillir pour stériliser tout l'intérieur. La vapeur s'échappe d'abord en plus grande abondance par le tube droit; quand on juge qu'il est suffisamment chaud, on le ferme avec le tube de verre qu'on vient de flamber. La vapeur s'échappe alors par l'autre tubulure. Au bout de quelques instants, on arrête l'ébullition et on met le tampon d'amiante. Nos expériences sur la génération spontanée nous ont appris que du moût ainsi traité se conserve indéfiniment.

Ajoutons-y des spores de mucédinée que nous prendrons, non sur une touffe exposée à l'air et chargée de ses poussières, mais sur une touffe provenant d'un ensemencement de spores dans un premier ballon. Nous verrons bientôt se développer les touffes blanchâtres de la mucédinée, qui se couronneront ensuite de sa fructification caractéristique. C'est là le mode de croissance et de vie ordinaire de la plante. Pour tâcher d'arriver à la transformation en levure, maintenons submergée, par une agitation fréquente, et à partir d'un moment quelconque, le mycélium ou la plante complète. Nous ne verrons jamais apparaître de levure dans ce liquide pourtant si propre à son développement.

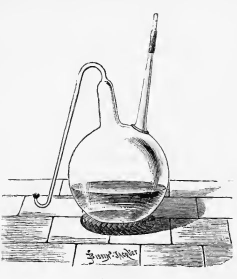


Fig. 36.

Essayons l'opération inverse. Ensemençons de la levure dans ce moût de bière, que nous mettrons en petite quantité au fond du ballon, et que nous promènerons fréquemment le long des parois, de façon à favoriser autant que possible l'accès de l'air et la naissance de la mucédinée, si elle est possible. Nous ne verrons jamais se produire de ces transformations jugées autrefois si faciles. Concluons donc que rien ne les démontre et que les idées de mutabilité des espèces ne se vérifient pas dans le monde des infiniment petits, malgré la simplicité apparente de formes et d'organisation, la succession rapide des générations les unes aux autres, la flexibilité relative avec laquelle elles se prêtent aux changements du milieu. Combattues par M. Pasteur dès 1861, par de Bary en 1869, par Reess en 1870, ces idées doivent être décidément abandonnées après les résultats des expériences de M. Pasteur dont nous venons de parler, et qui datent de 1876. Nous aurons occasion d'en reparler avec d'autres espèces, mais nous ne le ferons qu'en passant, puisqu'il s'agit d'une question jugée, en désaccord formel avec tous les résultats de ce livre.

Mais s'il est démontré que la levure et les mucédinées sont des êtres spécifiquement distincts, cela ne veut pas dire qu'il n'y ait aucune analogie dans leurs

fonctions physiologiques. Nous allons au contraire constater, dans les propriétés des cellules qui constituent ces végétaux divers, des analogies de propriétés, dont l'étude va singulièrement élargir la signification du mot de fermentation. Nous allons voir en effet qu'on peut passer par des transitions ménagées des moisissures, dans lesquelles nous venons de trouver de véritables agents de combustion, jusqu'aux levures qui possèdent au plus haut degré la propriété d'être ferments.

Recherches de quantités très petites d'alcool. — Toutefois, comme nous allons avoir à rechercher dans nos liquides des quantités quelquefois infinitésimales d'alcool, il est utile avant de commencer notre étude, et pour ne pas la scinder, d'indiquer ici les moyens que l'on peut employer pour cela.

Le moyen le plus expéditif a été indiqué et employé par M. Pasteur. Lorsqu'on distille dans une cornue de verre un liquide très faiblement chargé d'alcool, on constate que les premières gouttes qui se condensent sur le col encore froid de la cornue, au commencement de la distillation, s'y déposent en y formant des stries caractéristiques. Ce sont des larmes qui coulent sur les parois humides de la cornue, et qui semblent ne pas les mouiller. Elles descendent et se réunissent à la partie la plus déclive, comme des gouttes d'huile, laissant derrière elles comme une sorte de traînée allongée qui se résout à son tour en gouttelettes nouvelles. La région toujours très étroite où se produit ce phénomène se déplace peu à peu, à mesure que la cornue s'échauffe, vers le refrigérant, qui doit être en verre. Là, la zone striée reste stationnaire tant qu'il y a de l'alcool, et dure d'autant plus qu'il y en a davantage.

Quand le phénomène n'apparaît pas à une première distillation, on distille le liquide au tiers, puis celui-ci de nouveau au tiers, et ainsi de suite; quand il y a de l'alcool, on finit toujours par l'apercevoir. La sensibilité de la méthode est donc presque indéfinie, à la condition qu'on ait assez de liquide. A côté de cet avantage, elle présente un défaut.

Cette apparition des gouttes tient à ce que l'alcool a une tension superficielle inférieure à celle de l'eau; en d'autres termes, à ce que sa constante capillaire est différente. Presque toutes les substances volatiles qui se trouvent dans le même cas donnent aussi naissance, d'une façon plus ou moins apparente, à ce phénomène des gouttelettes, et par suite, on n'est jamais parfaitement sûr d'avoir affaire à de l'alcool ordinaire. Sans doute cette indécision s'affaiblit quand on n'étudie que des liquides sucrés, mais il est bon, cependant, de n'avoir pas du tout à compter avec elle.

On y arrive en utilisant, sous une autre forme, la faible tension superficielle de l'alcool. Les mélanges d'alcool et d'eau ont des tensions superficielles plus faibles que l'eau pure. Si on les fait couler par gouttes, sous un volume donné, à travers un orifice de dimensions constantes, le nombre des gouttes correspondant à chacun de ces mélanges est constant d'abord, puis d'autant plus grand que la proportion d'alcool est plus grande, de sorte qu'on a là un procédé à la fois alcooscopique et alcoométrique.

L'instrument que j'ai proposé pour le mettre en œuvre est un compte-gouttes pipette très simple (fig. 37), du volume de 5 centimètres cubes, terminé à sa partie

inférieure par un ajutage cylindrique formé d'un tube capillaire assez long pour que l'écoulement se fasse par gouttes. La section de l'orifice sur lequel elles se forment est telle que la pipette, remplie d'eau distillée, se vide en donnant



Fig. 37.

100 gouttes à 15°. Quand on veut étudier un liquide alcoolique, on en remplit la pipette jusqu'au trait d'affleurement supérieur, on nettoie avec du papier buvard l'orifice d'écoulement, qui doit être maintenu bien propre, et surtout ne jamais être gras ; on dresse la pipette sur un flacon, et on laisse couler en comptant les gouttes. La table ci-jointe donne les titres alcooliques correspondant aux divers nombres de gouttes à diverses températures.

	5°	7°,5	10°	12°,5	15°	17°,5	20°	22°,5
	—	—	—	—	—	—	—	—
Eau distillée.	98	98,5	99	99,5	100	100,5	101	102
Alcool à 0,5 p. 100.	102	102,5	103	103,5	104	104,5	105	106
— 1 —	105	105,5	106	106,5	107	107,5	108	109
— 2 —	111	111,5	112	112,5	113	113,5	114,5	115,5
— 3 —	116	116,5	117	117,5	118	118,5	119,5	120,5
— 4 —	120,5	121	121,5	122	122,5	123,5	124,5	125,5
— 5 —	124	124,5	125	125,5	126,5	127,5	128,5	130
— 6 —	127	127,5	128,5	129,5	130,5	131,5	132,5	134
— 7 —	130	131	132	133	134	135,5	136,5	138
— 8 —	133	134	135,5	136,5	137,5	139	140	141,5
— 9 —	136	137	138,5	139,5	140,5	142	143	144,5
— 10 —	139	140,5	141,5	142,5	144	145	146,5	147,5
— 11 —	142	143,5	144.5	145,5	147	148	149,5	150,5
— 12 —	145	146,5	148	149	150,5	151,5	153	154,5
— 13 —	148,5	150	151	152,5	154	155	156	157,5
— 14 —	152	153,5	154,5	155,5	157	158	159	160,5
— 15 —	155	156,5	157,5	158,5	160	161,5	163	164,5

Je n'ai pas mentionné les titres alcooliques supérieurs à 15° parce que, au delà de ces limites, et même un peu en deçà, l'alcoomètre est un moyen de dosage supérieur au compte-gouttes. C'est alors qu'il a son maximum de sensibi-

lité. En revanche, pour les liquides alcooliques très faibles, l'emploi de l'alcoomètre est incertain, et sujet à de nombreuses causes d'erreurs. C'est alors que le procédé par le compte-gouttes est le plus sensible. Entre l'eau pure et l'eau à 1 p. 100 d'alcool, il y a, comme on le voit, une différence de 7 gouttes, et comme l'appareil est précis à moins d'une demi-goutte, on voit qu'on peut doser au moins $\frac{1}{1000}$ d'alcool dans 5 centimètres cubes de liquide, c'est-à-dire 5 milligrammes d'alcool ou environ 6 millimètres cubes.

Aucune mesure de densité ne conduirait à ce résultat. Toutefois, il faut bien remarquer qu'employé seul, ce procédé ne met pas plus en garde que le précédent contre l'existence possible de produits volatils capables de donner des stries et d'augmenter le nombre des gouttes de l'eau distillée. La sécurité vient de l'emploi des deux moyens. L'alcool est la substance qui donne les stries les plus visibles et les plus durables, et qui augmente le moins la tension superficielle de l'eau, et les différences sont grandes, de sorte qu'avec un peu d'habitude, on peut toujours voir si l'on a affaire à de l'alcool ordinaire ou à un alcool de degré supérieur.

Pourtant, il y a des cas où il est absolument nécessaire de caractériser en nature l'alcool transformé. Quand on en a une quantité suffisante, on peut le séparer du dernier liquide distillé, par l'action bien connue du carbonate de potasse, et en faire de l'acide acétique d'abord, puis du cacodyle dont l'odeur est si caractéristique. Mais quand il y en a peu, il faut recourir à la production d'iodoforme. La manipulation est très simple et très sûre quand on la pratique de la façon suivante, indiquée par M. Muntz.

M. Muntz commence par distiller le liquide dans le serpentin renversé qu'emploie M. Schloesing pour le dosage de l'ammoniaque, et qui est un appareil à fractionnement d'une grande perfection. En opérant sur 100 grammes de liqueur initiale, on retire les 10 premiers centimètres cubes qui passent à la distillation. On ajoute à ce liquide 2 grammes de carbonate de soude pur cristallisé, et 0gr,1 d'iode réduit en poudre fine. Un excès d'alcali rend la réaction moins sensible. On chauffe, en agitant constamment, à une température voisine de 60°, sur la lampe à alcool ou mieux au bain-marie, jusqu'à ce que l'iode

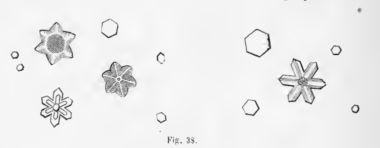


Fig. 38.

ait disparu. Par le refroidissement il se forme un dépôt jaune de paillettes chatoyantes, douées d'une odeur caractéristique. Lorsque ce dépôt est peu abondant ou peu accentué, on peut être fixé sur sa nature en l'étudiant au microscope. L'iodoforme se présente en tables hexagonales très régulières, souvent

isolées, quelquefois étoilées (fig. 38), et cet aspect et son odeur suffisent à le caractériser. Dans les essais de M. Muntz, on a pu retrouver ainsi 60 milligrammes d'alcool noyés dans 18 litres de liquide. On obtient encore un précipité appréciable en traitant directement 10 litres d'eau renfermant 20 milligrammes d'alcool. La limite de sensibilité est un peu inférieure à celle que donne l'emploi du compte-gouttes, mais la réaction est utile à essayer. Il faut dire pourtant que la certitude acquise n'est pas beaucoup plus grande que par tout autre procédé, d'autres substances volatiles que l'alcool pouvant donner la réaction de l'iodoforme. Mais quand les trois procédés que nous venons d'indiquer concluеront dans le même sens, on aura réuni, en faveur de la présence de l'alcool, assez de probabilités pour équivaloir à une certitude.

Pénicillium glaucum. — Nous sommes outillés maintenant pour constater la production d'alcool pendant la vie de certaines plantes pour certaines conditions de culture. Nous commencerons par celle chez laquelle le phénomène est le moins accusé, le pénicillium glaucum.

Quand on fait vivre ce pénicillium dans des ballons à deux cols, comme ceux que nous avons employés plus haut pour démontrer l'autonomie de cette plante, et où l'accès de l'oxygène est toujours difficile, on constate que le liquide de culture renferme fréquemment de l'alcool ordinaire. La proportion d'alcool est toujours faible, et ne dépasse guère un millième à un millième et demi du volume total. Loin d'être, comme on pourrait le supposer d'abord, en rapport avec le poids de la plante qui l'a produite, elle est, au contraire, plutôt en rapport inverse, de sorte que l'on constate quelquefois une richesse alcoolique assez grande avec un liquide où la plante a à peine poussé, et qu'avec une végétation abondante, on ne parvient pas à constater la présence de l'alcool, quelque sensible que soit le procédé employé pour cela.

En y regardant d'un peu près, on constate que ces variations dans la quantité d'alcool dépendent de l'abondance relative des quantités d'air ou d'oxygène qui ont été mises à la disposition de la moisissure, qu'elle soit sous forme de mycélium ou sous celle de plante complète. Quand la plante peut mettre en œuvre tout l'oxygène que comportent ses besoins, il n'y a pas, ou il y a très peu d'alcool formé. La plante pousse alors très bien. Quand elle végète péniblement en présence de doses insuffisantes d'oxygène, les proportions d'alcool augmentent.

Nous retrouvons donc là quelque chose d'analogue à ce que nous avons constaté pendant la fermentation du tannin, un changement dans les conditions physiologiques de la vie de la plante survenant à la suite d'un changement dans la quantité d'oxygène fourni. Seulement ici la modification est plus profonde que tout à l'heure. Il ne s'agit plus ici d'un simple phénomène d'hydratation que la plante est toujours obligée d'opérer, et à la suite duquel il survient un choix entre les produits de dédoublement. Il s'agit d'une modification d'allures plus profonde, car, pour passer du sucre à l'alcool, il faut une transformation moléculaire complexe, telle, que dans les conditions ordinaires, la plante ne donne jamais d'alcool. Tandis que le tannin peut donner de l'acide gallique sous l'influence de l'acide sulfurique ou des alcalis, il n'existe aucune réaction

chimique connue qui permette de passer du sucre à l'alcool. Bornons-nous pour le moment à cette notion simple du phénomène, nous allons la voir se développer et s'éclaircir dans les exemples suivants.

Aspergillus glaucus. — En donnant ce nom à la plante dont nous allons décrire les propriétés, M. Pasteur a fait des réserves qui, d'après ce que j'ai pu voir, me paraissent justifiées. Quoi qu'il en soit, cette végétation ressemble au pénicillium que nous venons d'étudier en ce sens que, cultivée au contact de l'air et à la surface d'une solution sucrée, elle brûle le sucre, non pas intégralement, mais avec production d'un acide qui n'a pas été étudié par M. Pasteur, mais qui, si la plante ressemble à celle que j'ai eue sous les yeux, est de l'acide oxalique.

Faisons-la vivre maintenant sur du moût de bière dans un ballon à deux cols comme celui de la fig. 36, et que nous avons déjà employé. Son développement y est très rapide et la fructification abondante. A ce moment, l'air étant encore en suffisante quantité, il n'y a pas d'alcool produit. Agitons alors le liquide de façon à submerger la moisissure, en présence d'un air déjà chargé d'acide carbonique. Dès le lendemain, ou le surlendemain au plus tard, nous trouvons le mycélium revenu à la surface du liquide, ramené du fond par de grosses bulles de gaz qui se reforment quand on les a fait dégager par l'agitation. Le phénomène continue ainsi et peut durer longtemps; la vie n'est pas active, mais elle ne s'éteint pas, et, au bout de quelques mois, on trouve dans le liquide des quantités d'alcool très appréciables. Dans une expérience de M. Pasteur, où on avait fait vivre l'aspergillus sur 122 centimètres cubes de moût de bière, on a trouvé, au bout d'un an, $4^{cc},4$ d'alcool, produits par un poids de plante qui ne dépassait pas $0^{gr},50$ à l'état sec. C'est, en alcool, environ sept fois le poids de la plante.

L'aspergillus, dans ces conditions, pousse peu en effet; il n'a à sa disposition que les petites quantités d'oxygène qui lui arrivent par diffusion au travers de la tubulure effilée et de l'atmosphère du ballon, alourdie par l'acide carbonique. Si l'on fait passer un courant d'air, la végétation redevient très active, le poids de plante est cinq ou six fois plus grand, mais on ne trouve plus d'alcool. Nous retrouvons là ce que nous avons vu tout à l'heure, une élaboration différente de la substance nutritive, accompagnant une puissance moindre de reproduction et une vie plus difficile.

L'aspergillus diffère du pénicillium en ce qu'il peut supporter plus longtemps l'appauvrissement en oxygène de l'atmosphère qu'il respire. Nous allons voir qu'il peut s'accommoder même pendant quelque temps de la privation presque absolue de ce gaz.

Nous allons pour cela faire une expérience que nous aurons quelquefois à répéter, et dont il est bon de donner le dispositif. On fait vivre, comme à l'ordinaire, l'aspergillus sur du moût de bière, dans un ballon à deux cols. On a, d'autre part, préparé d'avance un matras d'essayeur, dont on effile et dont on recourbe le col. On le purge de tout germe vivant en y faisant bouillir un peu d'eau, et en le laissant se remplir ensuite d'air calciné ou d'air filtré sur du coton, comme nous l'avons déjà fait plusieurs fois. Puis, au moment de faire

l'expérience, on abouche sur le col du matras, après flambage préalable, le caoutchouc que porte la tubulure droite du ballon. Cela fait, on agite le contenu du ballon, de façon à répartir la moisissure superficielle dans tout le liquide, à la noyer, et on fait passer le tout dans le matras (fig. 39). Le liquide qui, dans

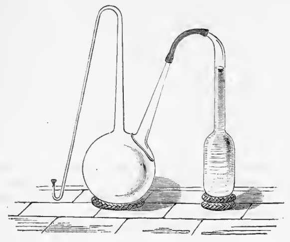


Fig. 39.

le ballon, était en grande surface et en petite épaisseur, est ici en grande épaisseur, et ne présente à l'air qu'une étroite surface, bientôt couverte d'une couche d'acide carbonique. Les quantités très faibles d'oxygène qu'il renfermait au moment du transvasement disparaissent bientôt, utilisées par le mycélium immergé. Celui du pénicillium suspendrait son action aussitôt tout l'oxygène consommé. Celui de l'aspergillus glaucus garde quelque temps la sienne, il s'enchevêtre de bulles de gaz qui le ramènent à la surface, qu'on fait dégager par l'agitation, et qui se reforment ensuite. Cet effet dure plusieurs jours, et, sauf que le dégagement n'est jamais très abondant, et n'est jamais continu, on croirait avoir sous les yeux une fermentation alcoolique. L'expérience montre, en effet, qu'il y a toujours, comme tout à l'heure, un peu d'alcool formé dans ces conditions.

Ceci va nous servir de transition avec les mucédinées que nous étudierons tout à l'heure. En voici une autre. Ces modifications dans la vie physiologique de la plante s'accompagnent de changements morphologiques très remarquables. Le mycélium, qui dans les circonstances ordinaires, lorsque la vie a lieu au contact de l'air, est régulièrement cylindrique, et d'un diamètre de $\frac{1}{300}$ de millimètre environ, se dilate par places en renflements irréguliers, dont la grosseur peut atteindre $\frac{1}{50}$ de millimètre. Les cloisons tranversales deviennent plus nombreuses; enfin, les spores elles-mêmes paraissent se tranformer en grosses cellules gonflées, à protubérances irrégulières ou sphériques remplies de granulations. Il n'y a guère, à présenter ces formes bizarres, que les tubes mycéliens

ou les spores des parties centrales des touffes, là où l'oxygène pénètre le moins facilement, absorbé qu'il est par les parties périphériques.

Quelques végétations cryptogamiques ont la singulière propriété de pouvoir se reproduire par des spores mycéliennes et sans avoir besoin d'organes aériens et de fructification. Ces spores portent d'ordinaire le nom de *conidies*. Elles se forment par un cloisonnement du tube mycélien, qui y permet la formation d'une cellule arrondie, capable de se détacher et de mener désormais une vie indépendante. Avec l'aspergillus glaucus, dans les conditions où nous l'avons fait vivre, il n'y a pas à proprement parler de conidies. Les cellules renflées ne montrent jamais d'autre trace de bourgeonnement que les protubérances irrégulières qu'elles portent quelquefois; mais nous nous rapprochons évidemment de cette forme de reproduction qui, en dotant les cellules immergées de la propriété de proliférer isolément, les place à côté des cellules de levure. Nous allons nous en rapprocher davantage avec le végétal suivant.

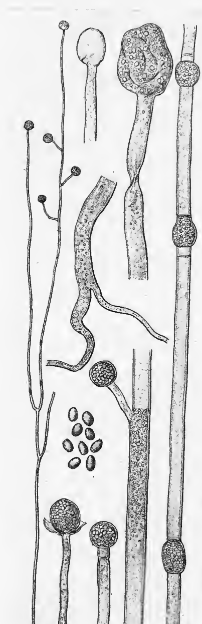
Mucor racemosus. — Les *mucors* sont des végétaux microscopiques qui diffèrent du pénicillium ou de l'aspergillus en ce que leurs spores, au lieu de former panache au sommet du filament fructifère, y sont renfermées dans une sorte de poche nommée sporange, d'où elles sortent par rupture de la paroi. Le *mucor racemosus* est caractérisé à son tour dans l'espèce par ce fait que ses tubes à sporanges sont rameux. On peut l'obtenir presque à coup sûr en exposant dans un vase ouvert, dans une étuve, un peu de crottin de cheval, surtout des chevaux de Paris. Il se produit, à la surface de la masse, des végétations diverses, parmi lesquelles domine le mucor racemosus, qu'on peut reconnaître facilement aux touffes blanches et argentées qu'il forme, et en se rapportant à la fig. 40 qui le représente. On peut le cultiver sur des tranches de citron, de poire, de pain humecté d'un liquide acide. Il vit aussi très bien, d'après A. Fitz, dans une solution de sucre de lait, mais ne le fait pas fermenter. Il le fait fermenter, au contraire, si le sucre de lait a été interverti d'avance. Il se comporte de même vis-à-vis de l'inuline, qu'il laisse intacte, tandis qu'il détruit la lévulose qu'on en obtient par interversion. Il se développe bien sur le moût de bière, mais à la condition d'y avoir été ensemencé pur.

Cultivons-le, comme nous avons fait tout à l'heure pour l'aspergillus, avec du moût de bière dans un matras à deux cols. Il y restera plus facilement que l'aspergillus à l'état de mycélium. Dans cette atmosphère, pauvre en oxygène, les organes de fructification n'apparaissent pas. En revanche, le mycélium se montre presque immédiatement spumeux et gonflé de bulles d'acide carbonique. Il est évident, à première vue, que nous avons fait un pas depuis l'aspergillus.

Faisons passer, comme tout à l'heure, le liquide et le mycélium flottant dans un matras d'essayeur. Nous allons assister encore à une fermentation, mais qui ici sera continue. Les petites bulles gazeuses se succèderont régulièrement à intervalles d'abord rapprochés, puis plus longs, puis enfin tout s'arrêtera et pourra rester stationnaire pendant des mois entiers.

La plante n'est pourtant pas morte. Ramenons-la en effet dans son premier ballon, où elle rencontrera de l'air. Dès les premiers jours, nous y verrons recom-

mencer le dégagement de bulles. Le repos n'existait donc que parce que, dans le matras, il y avait privation d'air. Ramenons le liquide dans le matras, la fermentation continue quelques jours, puis s'arrête. On la réveille en faisant repasser



A gauche, port général d'un filament fertile. (Grossissement 50).
Au milieu, insertion d'un filament fertile sur le mycélium. (G[t] 500).
A droite, portion du filament fertile, grossie 500 fois avec des masses protoplasmiques très fortement granuleuses, formant des renflements cloisonnés.
En haut et en bas, aspects divers du renflement terminal à divers états de maturation, depuis sa formation jusqu'au moment où il ne reste plus que la columelle centrale avec les débris du sporange brisé, formant collerette autour de la base de la columelle. Le grossissement est de 500. C'est à ce même grossissement que sont dessinées les spores un peu ovales qu'on voit sur la figure, et qui sont bien plus grosses que les granulations protoplasmiques contenues à l'intérieur des columelles ou des filaments sporifères.

Fig. 10. — *Port et fructification du mucor racemosus.*

le liquide dans le ballon, et ainsi de suite jusqu'à disparition complète du sucre, s'il n'y en avait plus de 7 à 8 p. 100 dans la liqueur initiale.

Si l'on compare le poids d'alcool obtenu au poids de plante active, on trouve des nombres encore plus élevés que pour l'aspergillus. Ainsi, dans les expériences dont M. Pasteur donne le détail, le poids de l'alcool a varié entre dix et vingt fois le poids du mycélium du mucor.

Mais ce qu'il y a de plus curieux, c'est que la structure de la plante se modifie complètement dans les nouvelles conditions d'existence qu'on lui a faites. Vivant comme moisissure, sur un corps humide, ou sur un liquide dont l'air en dissolution peut se renouveler facilement, les tubes de mycélium sont grêles, rameux, enchevêtrés, et portent de nombreux tubes fructifères aériens. Quand on le fait vivre dans un matras à deux cols, en présence d'un volume d'air insuffisant et mal renouvelé, le mucor nous montre les effets déjà observés pour l'aspergillus, mais avec un caractère plus marqué, parce qu'ici la résistance à l'asphyxie est plus naturelle, et l'activité de la nutrition dans les conditions nouvelles plus grande que dans les plantes déjà étudiées. Les spores grossissent davantage avant de germer. Les tubes mycéliens qui en sortent ont deux ou trois fois le diamètre du mycélium normal; ils poussent de distance en distance des ramifications latérales qui se détachent et vont végéter à côté, en se terminant ou s'interrompant par des chaînes de grosses cellules, qui sont de vraies conidies, de vraies spores mycéliennes. La fig. 41 rend assez bien cet aspect du phénomène.

Quand on laisse la plante vieillir à l'abri de l'air, et aux dépens du sucre, on voit les tubes devenir moins nombreux, et les formes celluleuses rondes augmenter au contraire. Les bourgeonnements nouveaux produisent surtout des cellules sphériques et ovales, et chacune de ces cellules donne deux, trois, quatre, six bourgeons et même davantage. La ressemblance avec des cellules de levure est alors tellement frappante, que le botaniste Bail, en 1857, avait cru à la transformation des mucors en levure. La culture pure en ballons, comme l'a faite M. Pasteur, prouve, comme Reess l'avait du reste déjà vu, que cette transformation n'a pas lieu, et que la fermentation qui se produit est le fait des spores mycéliennes du mucor.

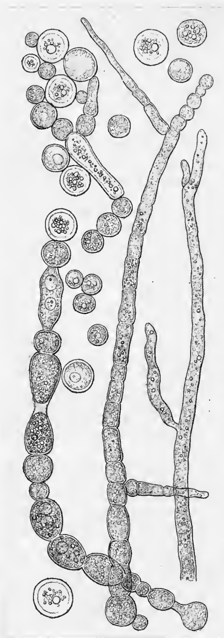
Leur vie peut se perpétuer longtemps ainsi à l'abri de l'air, mais elles vieillissent d'une manière évidente; leur protoplasma, de fluide qu'il était, devient granuleux. Au lieu de remplir la cellule et de lui donner l'aspect turgescent, il se condense et se rassemble au centre, laissant une plage vide entre la paroi et lui. A cet état, les cellules sont le plus souvent mortes, et incapables de rajeunir par une nouvelle aération.

Nous retrouvons en résumé, ici, des faits déjà connus, mais c'est pour la première fois que nous voyons naître aux dépens d'un mycélium immergé des formes autonomes, pouvant se reproduire dans le même liquide, et manifester un pouvoir ferment plus grand que les cellules qui leur ont donné naissance.

Mucor mucedo. — Du *mucor racemosus*, on peut rapprocher d'autres mucors qui jouissent, en gros, des mêmes propriétés que lui, et pour lesquels

sans revenir sur ce que nous savons déjà, nous nous bornerons à indiquer ce qu'ils présentent de caractéristique.

Le *mucor mucedo* se distingue des autres mucors par ce fait que ses filaments



La figure montre les transitions successives entre le mycélium normal et les conidies ou spores mycéliennes :

A gauche, filament non encore cloisonné, mais qui commence à se renfler irrégulièrement.

Au milieu, le filament a encore grossi, s'est fortement cloisonné, et les cellules ainsi limitées passent peu à peu à la forme sphérique. Ce passage ne se fait pas uniformément pour les cellules d'un même filament. Il paraît dépendre surtout de la privation plus ou moins grande d'oxygène au moment où la cellule s'accroît.

A droite, les cellules formées tendent à se détacher les unes des autres, et à se répandre dans le liquide en amas irréguliers comme ceux qu'on voit dessinés au bas de la figure. Chez les plus vieilles, le protoplasma se condense en granules plus ou moins volumineux, et le contenu de la cellule ronde devient plus transparent. Le grossissement est partout de 300.

Fig. 41. — *Mycélium du mucor racemosus vivant submergé.*

fructifères ne sont pas rameux et ne présentent qu'un sporange terminal. C'est le mucor étudié en 1857 par Bail, qui avait cru, comme nous l'avons vu, à sa transformation en levure. Reess, en 1870, combattit cette erreur, en montrant que la levure de bière et la levure du mucor n'avaient pas les mêmes caractères; que la première ne se colorait pas sous l'action du chloroiodure de zinc, tandis que la levure du mucor se colorait en rouge vineux; enfin qu'il était impossible, quand on prenait des précautions contre les erreurs si faciles en pareille matière, de faire dériver le mycélium du mucor de la levure de bière, et celle-ci de la levure de mucor.

L'étude chimique de la fermentation produite par la levure de mucor a été faite en 1873 par A. Fitz. D'après ce savant, le mucor mucedo ne fait fermenter ni la dextrine, ni l'inuline, ni le sucre de lait. M. Fitz lui attribue la propriété d'intervertir le sucre candi; mais M. Gayon, qui a étudié depuis ce même mucor dans des conditions de pureté plus grandes, que l'emploi des procédés de M. Pasteur rend désormais à la fois faciles et nécessaires, l'a trouvé destitué de cette propriété. Le mucor de M. Fitz était donc sans doute mélangé d'une espèce étrangère ou d'une torulacée possédant le ferment inversif. Mais comme elle a passé inaperçue, elle était probablement en petite quantité, et sa présence n'infirme pas les autres résultats du travail de M. Fitz.

Parmi ces résultats, je signalerai ceux-ci, qui constituent des analogies avec la levure de bière. La levure de mucor fait fermenter, cela va sans dire, le moût de raisin, mais la fermentation est plus active quand on ajoute du phosphate de potasse, du sulfate de magnésie, et une matière azotée. Cette dernière, dans les expériences de M. Fitz, était de la pepsine, mais il est probable qu'elle n'agissait que par les peptones qu'elle renferme toujours, et que la diastase qui y était contenue ne jouait aucun rôle dans le phénomène. Circonstance plus singulière et qui est d'accord avec ce que nous retrouverons plus tard pour la levure de bière, les sels ammoniacaux, et dans l'espèce, le tartrate d'ammoniaque, étaient un aliment azoté au moins aussi bon que la pepsine. M. Fitz a constaté, après la fermentation, la présence certaine de l'acide succinique, celle de la glycérine d'une façon douteuse. Il a aussi trouvé dans le liquide fermenté de petites quantités d'aldéhyde.

Il a en outre étudié de près, pour le mucor mucedo, un phénomène assez général, c'est que celles de ces espèces végétales, qui peuvent devenir des ferments, sont d'ordinaire incapables de porter au delà d'une valeur déterminée, presque toujours assez faible, la teneur alcoolique du liquide où elles vivent. M. Fitz attribue cet effet à ce que l'alcool tue la levure, lorsqu'il atteint une certaine proportion. Il est bien possible que les choses aillent quelquefois jusque-là, mais il est plus probable que la cause est différente, et due à la privation d'air, que M. Fitz a méconnue, et que M. Pasteur a mise depuis en évidence. Ce n'est qu'au bout d'un temps plus long que celui des expériences de M. Fitz que la mort survient.

Mais il n'en est pas moins vrai que ces diverses cellules de mucor poussent plus ou moins loin la fermentation d'une même solution sucrée. Pour les classer sous ce rapport, il faudrait faire des expériences dans des conditions rigoureusement comparatives, qui n'ont pas été réalisées. En prenant les nombres

connus jusqu'ici, on forme le tableau suivant pour les titres alcooliques limites se rapportant aux divers mucors étudiés.

	D'après			
	Pasteur.	Fitz.	Brefeld.	Gayon.
Mucor racemosus	3,4 p. 100	2,5 p. 100	5,1 p. 100	»
— mucedo	1,8	0,8	2,6	»
— circinelloïdes	»	»	»	5,5 p. 100
— spinosus	»	»	»	2,0

On voit que l'ordre pour le mucor racemosus et le mucor mucedo est le même chez les divers expérimentateurs, parce que pour chacun d'eux les expériences étaient faites dans des conditions comparables, mais que les nombres sont différents de l'un à l'autre parce que les conditions étaient différentes chez chacun d'eux. Il n'y a donc à retenir de ces faits que cette conclusion, c'est que l'action de ces levures s'arrête longtemps avant celle de la levure de bière dans la transformation d'un liquide sucré.

Mucor circinelloïdes. — Le mycélium de ce mucor, unicellulaire comme celui de tous les mucors, donne des filaments fructifères qui se couronnent d'un sporange grisâtre, de forme sphérique avant qu'il ne soit mûr. Ensuite pousse sur le même filament une branche nouvelle qui rejette la première sur le côté, et se termine à son tour par un sporange. Une troisième génération de sporanges rejette la seconde sur le côté opposé à la première, et ainsi plusieurs fois, de sorte que, finalement, les filaments fructifères portent à leurs extrémités de petites grappes de quatre, cinq et six sporanges, dont le diamètre va en diminuant de la base au sommet. Chaque sporange est incrusté de petites aiguilles cristallines. La déhiscence se fait par rupture de la membrane, et laisse un sac vide au fond duquel on aperçoit une columelle à peu près sphérique. La fig. 42 donne une idée assez nette de cet aspect général de la plante.

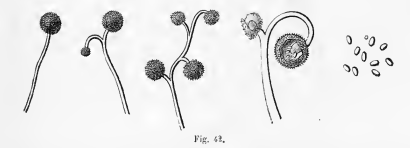


Fig. 42.

Les spores sont elliptiques et mesurent de 4 à 5µ de longueur sur 2 à 3 de largeur.

Les spores mycéliennes que donne le végétal, lorsqu'il est ferment, dans les mêmes conditions que ceux qui précèdent, sont beaucoup plus grosses. Leur diamètre atteint 20 et 25µ. Elles bourgeonnent très activement, et comme nous

l'avons vu à la fin du tableau ci-dessus, portent la richesse alcoolique à un niveau supérieur à celui de leurs congénères.

Le mucor circinelloïdes, d'après M. Gayon, vit très bien dans le moût de bière, celui de raisin, le glucose et la lévulose. Les quantités d'alcool produites s'élèvent aux chiffres suivants :

Moût de bière	4,1
Moût de raisin	4,7
Glucose ordinaire	3,9
Glucose du sucre interverti	3,4
Lévulose	4,7

Mais ce mucor, mis en contact avec une solution de sucre candi, ne le fait pas fermenter parce qu'il ne l'intervertit pas. Contrairement à la levure de bière, il ne sécrète de sucrase ni à l'état de mycélium, ni à l'état fructifié. Il faut donc, si l'on veut le faire agir sur le sucre cristallisable, commencer par transformer ce sucre, soit par l'action d'un acide, soit au moyen d'un fragment de papier recouvert de sucrase.

Quant aux produits de la fermentation du sucre interverti par le mucor, ils sont de même nature que ceux que fournit la levure de bière, et il n'y a pas lieu d'insister.

Mucor spinosus. — Les filaments fructifères de ce mucor, que M. Van Tieghem a décrit le premier, se renflent souvent près de leur extrémité, puis se rétrécissent à la base de la columelle (fig. 43). Les spores, sphériques, de 4 à



Fig. 43.

6 millièmes de millimètre de diamètre, sont renfermées dans des sporanges d'un gris foncé, incrustés de petites aiguilles cristallines. La columelle, généralement pyriforme, se distingue par des prolongements épineux, en nombre variable.

Ce mucor n'intervertit pas non plus le sucre de canne, et n'y détermine la fermentation alcoolique que si on ajoute à la liqueur un peu de sucrase. Ses

spores mycéliennes se reproduisent peu; aussi la fermentation s'arrête vite. Nous avons vu plus haut que le titre alcoolique atteint n'était pas élevé.

En résumant maintenant l'ensemble des notions que nous venons d'acquérir, nous pouvons dire que la propriété d'être ferment, pour ces espèces inférieures, nous apparaît comme liée à leurs conditions d'existence. Avec beaucoup d'oxygène, la plante est un agent de combustion, et brûle le sucre sans le faire passer par des états intermédiaires. Peut-être dans ces conditions se produit-il de l'alcool; mais, s'il existe, ce n'est que d'une façon transitoire, car il est brûlé immédiatement. Privée au contraire d'oxygène, ou n'en ayant à sa disposition, après une vie active au contact de l'air, qu'une quantité insuffisante, la plante peut encore vivre, mais elle devient ferment alcoolique, et son activité, sous ce rapport, peut durer plus ou moins longtemps suivant les espèces. Lorsqu'elle s'éteint, on la réveille en ramenant la plante au contact de l'air. On peut recommencer ainsi plusieurs fois de suite.

Cette persistance de l'activité vitale après la suppression de l'oxygène est précisément ce qui différencie le mycélium du mucor vivant dans le sucre, du mycélium de l'aspergillus vivant dans une solution de tannin.

Elle le rapproche au contraire de la levure de bière, et c'est pour cela qu'elle était intéressante à constater. Mais quelle peut être l'explication de ce fait? Il est d'accord avec deux hypothèses. Ou bien le mycélium du mucor accumulerait dans ses tissus, lorsqu'il est au contact de l'air, une réserve d'oxygène qui lui permettrait de vivre à l'abri de l'air tant qu'elle ne serait pas épuisée, et de vivre comme il le fait quand on lui ménage beaucoup l'oxygène, c'est-à-dire en faisant fermenter le sucre, et en trouvant dans la chaleur produite par la destruction de ce composé la chaleur nécessaire pour la formation de ses tissus. Dans ce cas, la fermentation du sucre se rattacherait, par un lien apparent, aux phénomènes de combustion produits par les mucédinées. Une seconde hypothèse consiste à admettre chez l'oxygène une sorte de force impulsive pour les actes nutritifs qui peuvent ensuite se prolonger hors de son influence, et qui se terminent lorsque l'énergie communiquée à la vie des cellules s'est usée. C'est celle qu'adopte M. Pasteur : « On dirait, dit-il page 132 de son remarquable livre sur la bière, que l'énergie vitale empruntée à l'influence de l'oxygène gazeux est capable d'entraîner l'assimilation de l'oxygène non plus gazeux, mais déjà engagé dans des combinaisons comme le sucre, et d'où résulterait la décomposition de celui-ci. A envisager les choses de cette manière, je crois qu'il y a là un fait général, et que chez tous les êtres vivants on retrouverait cette manière d'agir de l'oxygène et des cellules. Quelle est la cellule qui, asphyxiée tout à coup par privation d'air, périrait sur-le-champ et d'une manière absolue? Il n'en existe probablement d'aucune sorte ayant ce caractère. Des modifications plus ou moins profondes, la continuation des assimilations et désassimilations qui ont eu lieu pendant la vie, doivent se poursuivre après la suppression du gaz oxygène, et il doit en résulter des fermentations obcures et peu actives en général, mais qui, chez les cellules des ferments proprement dits, auraient une intensité plus grande et plus durable. »

Nous allons voir cette notion se préciser en étudiant maintenant la levure de bière.

BIBLIOGRAPHIE

PASTEUR. — *Études sur la bière*, Paris, Gauthier-Villars, 1876.

DUCLAUX. — Recherches sur les vins, *Ann. de ch. et de phys.*, 5e série, t. III, 1874.

MUNTZ. — Recherches sur la fermentation alcoolique intracellulaire des végétaux. *Comptes rendus*, t. LXXXVI, p. 49, et *Ann. de ch. et de phys.*, 1878.

ALB. FITZ. — *Über die alkoholische Gährung durch den Schimmelpilz mucor racemosus Berichte der Deuts. chem. Gesell.*, 1875 et 1876.

GAYON. — Sur la fermentation produite sur le mucor circinelloïdes. *Ann. de ch. et de phys.*, 5e série, t. XIV, p. 258.

CHAPITRE XX

LEVURES AÉROBIES ET ANAÉROBIES

Nous avons vu, dans le chapitre précédent, des espèces végétales, vivant d'ordinaire au libre contact de l'air, pouvoir s'accommoder pendant un temps plus ou moins long de la privation d'oxygène. Nous allons voir ici des êtres qui nous sont connus, et dont quelques-uns nous sont précieux, parce qu'ils font fermenter les liqueurs sucrées à l'abri de l'air, pouvoir au contraire accepter une vie aérienne, et s'y comporter comme les moisissures dont nous venons d'étudier les propriétés.

Mycolevure. — La meilleure transition entre les deux catégories d'êtres que je viens de spécifier est une levure que j'ai découverte, et à laquelle j'ai donné le nom de mycolevure, qui rappelle son caractère intermédiaire entre les levures et les mucédinées. On la voit souvent apparaître spontanément à la surface du liquide que nous avons appris à connaître sous le nom de liquide Raulin, lorsqu'on l'expose en grande surface à l'air sans l'ensemencer, surtout lorsqu'on y diminue de moitié environ la proportion d'acide tartrique. Cette levure se développe sous forme d'un voile régulier, qui se plisse lorsque l'espace lui manque pour s'étendre, et qui peut quelquefois devenir très épais. Il est formé d'une infinité de cellules ovoïdes, plus ou moins granuleuses dans leur intérieur, ayant la grosseur des globules ordinaires de levure comme limite extrême, mais pouvant être quelquefois beaucoup plus petites. Elles rappellent du reste tout à fait la levure par leur aspect, leur mode de bourgeonnement, et les paquets rameux qu'elles forment quelquefois. Cependant, les globules provenant d'un même globule initial restent rarement unis les uns aux autres, et sont le plus souvent par groupes de deux. Quand le globule vieillit, son protoplasma se condense plus rapidement en gros granules que celui de la levure. La fig. 44 donnerait une idée exacte de l'aspect comparé des globules jeunes et vieux si les contours étaient plus fondus des deux côtés.

Sous la forme de voile, le mycolevure est un agent énergique de combustion, et se comporte comme une mucédinée. Corrélativement, le poids de cellules produit par un poids donné de sucre est considérable, et égale celui que nous

avons obtenu avec l'aspergillus. Dans une expérience où j'ai fait circuler constamment un courant d'air à la surface du voile, pour lui fournir l'oxygène nécessaire, j'ai trouvé que le poids de la levure obtenue représentait 35 p. 100 du poids du sucre disparu; c'est le même chiffre que pour l'aspergillus.



Fig. 44. — *Mycolevure*. (Grossissement 500.)
Côté gauche, mycolevure vieille.
Côté droit, mycolevure rajeunie à la surface d'un liquide exposé à l'air et sucré.

L'emploi du courant d'air permettait le dosage de l'acide carbonique produit. Celui qui s'est formé dans l'expérience précédente, pendant les six jours qu'elle a duré, représentait 50 p. 100 du poids du sucre. Après cet intervalle, il n'y avait plus ni sucre ni glucose. On y a trouvé une trace d'alcool qui, si elle avait été produite suivant l'équation ordinaire de la fermentation alcoolique, aurait représenté environ 1 p. 100 du poids du sucre. Toute la quantité de sucre dont on ne trouvait pas l'équivalent dans les produits énumérés, environ 14 p. 100, avait été employé en partie à faire des substances non dosées, qui sont certainement en très petite quantité. Mais la plus grande partie de la perte était représentée par la différence de composition élémentaire entre la levure et le sucre, différence qui ne permet pas qu'on regarde la levure produite comme représentant poids pour poids les 35 p. 100 de sucre disparu. L'expérience, d'accord avec le calcul, d'accord aussi avec les lois de la physiologie, montre que le poids du sucre entré dans les matériaux de construction de la levure est plus grand que le poids de levure produite.

Supposons maintenant que nous ayons produit, comme tout à l'heure, le voile de mycolevure dans une cuvette ou un vase à fond plat, au libre contact de l'air. Lorsqu'il est bien développé sur un liquide Raulin, introduisons le liquide dans un flacon qui en soit rempli. Nous verrons immédiatement commencer dans ce flacon une fermentation véritable, traduite par un dégagement d'acide carbo-

nique et la formation de l'alcool dans la liqueur. La mycolevure semble, comme on voit, se plier sans difficulté à ses nouvelles conditions d'existence. Aussitôt immergée, elle passe, sans transition, de sa fonction de mucédinée à sa fonction de levure, et c'est à raison de cette propriété quelle a reçu son nom.

A partir du moment où elle vit comme levure, son bourgeonnement et sa reproduction cessent d'être aussi rapides. Elle conserve à peu près le poids qu'elle avait au moment de l'immersion. Dès lors, le rapport pondéral entre le poids de la levure produite et le poids du sucre disparu de la liqueur devient plus faible que tout à l'heure, et il est d'autant plus petit que la levure est immergée plus tôt. Je l'ai vu descendre jusqu'à $\frac{1}{39}$ du poids du sucre.

Corrélativement, la proportion d'acide carbonique diminue, parce que le sucre n'est pas brûlé directement, au moins à partir du moment de la submersion. Il se transforme en alcool et en acide carbonique, et les proportions de ces deux corps se rapprochent de celles qui caractérisent une fermentation alcoolique véritable. Seulement, comme les végétaux précédemment étudiés, la mycolevure ne peut pas transformer d'aussi notables proportions de sucre que la levure. Je n'ai jamais pu dépasser avec elle 3 p. 100 d'alcool.

Quoi qu'il en soit, voici une cellule jouissant des deux propriétés suivantes :

1° Elle vit à l'état d'agent comburant, à la surface des liquides, en brûle le sucre en utilisant pour la construction de ses tissus tout celui qu'elle ne transforme pas en acide carbonique, et elle se reproduit activement dans ces conditions;

2° Amenée à l'abri de l'air, elle se plie facilement à ces nouvelles conditions d'existence, qui ne sont pourtant pas ses conditions normales, car, ensemencée sous l'eau, elle ne prend qu'un développement insignifiant, et il faut d'abord, comme nous l'avons fait, la cultiver à l'air pour l'immerger ensuite, quand on veut lui donner sa fonction de ferment;

3° Cette vie à l'abri de l'air se caractérise par les phénomènes suivants : la mycolevure augmente peu de poids, ce qui prouve que la vie est devenue plus pénible pour elle; elle continue à vivre et à produire de l'acide carbonique, mais elle donne en même temps de l'alcool en proportion de l'acide carbonique produit.

Remarquons que toutes les relations que nous venons d'établir ne sont pas des relations théoriques : ce sont des relations de fait, que nous n'avons pas encore à interpréter. C'est encore établir une relation de fait que de dire que la mycolevure a une vie au contact de l'air où elle est moisissure, une vie à l'abri de l'air où elle est ferment. Sans doute ces deux vies ne sont pas absolument séparées. Ce que nous avons dit plus haut prouve que la vie à l'abri de l'air ne commence que si la levure a été d'abord cultivée au contact de l'air; que celle au contact de l'air est toujours accompagnée de l'autre, au moins dans les couches inférieures de la pellicule superficielle, car nous avons vu que, même avec l'emploi d'un courant d'air, on ne supprimait jamais complètement la production d'alcool. Mais ces deux vies sont distinctes, c'est tout ce qu'il nous faut pour le moment. Nous attendrons, pour généraliser l'enseignement qui en résulte, d'en rencontrer des exemples nouveaux.

Levures. — Nous arrivons maintenant aux levures, c'est-à-dire à ces êtres si singuliers qui, par nature, paraissent investis de la mission de transformer les solutions sucrées en boissons alcooliques. Elles diffèrent de tous les végétaux que nous avons étudiés jusqu'ici en ce qu'elles ne peuvent vivre à la surface du liquide. Leur état normal est de vivre immergées, comme les mycéliums. Il y a même plus. Au lieu de s'étaler comme eux en masses flottantes et diffuses, où chaque cellule végétale est entourée d'eau de tous côtés, la levure se tasse au fond du vase en masses quelquefois assez compactes, dont les couches supérieures seules ont le contact d'un liquide aéré.

A raison de ces circonstances, il est difficile de savoir comment les levures se comportent au contact de l'air, et la transition que nous cherchons à établir entre les végétaux cryptogamiques et les levures serait interrompue, si nous ne trouvions un moyen de tourner cette difficulté. Cela est heureusement très facile. Il suffit, comme l'a fait M. Pasteur, auquel est due la série d'expériences que nous avons à exposer, d'ensemencer de la levure dans une large cuvette plate où le liquide sucré est en très faible épaisseur, et où l'accès de l'air dans les profondeurs est aussi facile que possible. On choisira de préférence une levure comme ce que nous apprendrons bientôt à connaître sous le nom de levure haute, qui donne des paquets rameux et reste plus facilement en suspension que ses congénères. Enfin, on interrompra l'opération aussitôt que le fond de la cuvette sera recouvert d'une faible couche de levure, de façon à éviter le tassement dont nous parlions plus haut, et la différence de vie qui en résulte entre les cellules les plus profondes et celles qui les recouvrent. Dans ces conditions, on peut admettre que chaque cellule a bourgeonné dans un liquide suffisamment aéré pour suffire à tous ses besoins, et même les dépasser; et si la loi que nous avons trouvée vraie jusqu'ici continue à se vérifier, nous devrons trouver qu'il s'est produit beaucoup de levure avec une quantité relativement faible de sucre, ou bien, ce qui revient au même, que le rapport du poids du sucre disparu au poids de levure produit est faible. L'expérience montre qu'il est en effet voisin du nombre 4. C'est le plus faible que M. Pasteur ait pu obtenir. On voit qu'il se rapproche beaucoup de celui que nous avons trouvé pour la mycolevure et pour les diverses mucédinées étudiées dans les chapitres précédents.

Le sucre qui a disparu a servi en partie à former les tissus de la jeune plante. Tout l'excédant a été brûlé aux dépens de l'oxygène puisé dans l'air et dans le liquide. Il y a eu de l'acide carbonique produit, mais on ne peut pas dire qu'il y ait eu fermentation alcoolique. On ne trouve encore dans la liqueur que des traces d'alcool, correspondant à une quantité minime du sucre disparu, et il est visible qu'il n'y en aurait pas du tout, s'il était possible d'entourer chaque cellule bourgeonnante de tout l'air qui lui est nécessaire. En résumé, la levure n'est alors pas ferment, c'est une moisissure ordinaire, c'est un végétal vivant dans l'air, un végétal aérobie.

Mais les précautions mêmes que nous avons dû prendre, pour lui permettre de manifester ce caractère, prouvent qu'il est plus anaérobie qu'aucun des êtres étudiés jusqu'ici, et nous allons profiter de cette propriété. Pour cela, prolongeons simplement l'expérience, que nous venons de faire, jusqu'au moment où

le sucre a totalement disparu de la liqueur. Nous trouverons au fond de la cuvette une épaisseur sensible de levure, dont la surface supérieure seule sera en contact avec un liquide un peu aéré. Les couches inférieures vivront dans un milieu privé d'oxygène. Le rapport du poids du sucre, disparu comme sucre, au poids de levure produite, sera alors de 8 à 10, plus élevé, par conséquent, que tout à l'heure. De plus, nous trouverons ici de l'alcool, en quantités plus grandes que dans l'expérience ci-dessus.

Arrêtons-nous un instant pour bien préciser la signification de tous ces phénomènes. Supposons, pour simplifier, que nous opérions avec la même quantité, par exemple avec 100 grammes de sucre, dans toutes nos expériences, et considérons la première.

Les nombres qui s'y rapportent montrent que lorsque tout le sucre aura disparu en tant que sucre, il y aura 25 grammes de levure, produite évidemment en partie aux dépens des éléments du sucre, car nous pouvons disposer l'expérience de façon à ce qu'il n'y ait pas d'autre élément hydrocarboné dans la liqueur.

Il serait très souhaitable de savoir quel a été le poids de sucre employé à cet usage. La composition du végétal est évidemment très différente de celle de son aliment. La levure renferme de 50 à 55 p. 100 de carbone, le sucre, seulement 40 p. 100. Il y a dans les deux à peu près la même quantité d'hydrogène. La levure renferme de l'azote et moins d'oxygène que le sucre. Pour nous borner au carbone, la production de 1 gramme de levure exige plus de 1 gramme de sucre. Pour simplifier, nous admettrons, comme nous l'avons fait déjà au chapitre précédent, que le poids du sucre est égal au poids de la plante. Nous obtiendrons ainsi des nombres qui, pour être exacts, auraient besoin d'être multipliés par un certain facteur. Mais tant qu'il s'agira du sucre et de la levure, d'un même végétal et d'un même aliment, ce facteur pourra être considéré comme constant. Il pourra bien subir de petites variations, car à la fin d'une fermentation, la levure n'est pas toujours identique à elle-même, mais comme nous ne voulons arriver pour le moment qu'à une vue générale du phénomène, nous pouvons les négliger.

Nous aurons donc dépensé dans notre expérience, pour l'édification des tissus de nos 25 grammes de levure, 25 grammes de sucre. Le reste, 75 grammes, aura été employé à la combustion respiratoire des tissus, à entretenir la vie des cellules déjà formées et des cellules nouvelles qui se forment à tout instant, car le bourgeonnement est alors très actif. Finalement, dans la courte durée de notre expérience, ces 75 grammes sont en entier brûlés par la levure, car nous supposons qu'il n'y a pas du tout d'alcool formé dans les conditions dans lesquelles nous avons opéré.

Dans notre seconde expérience, avec les mêmes 100 grammes de sucre, il n'y a qu'un poids plus faible de levure produite, supposons 10 grammes, ayant absorbé à leur profit exclusif 10 grammes de sucre. Des 90 grammes restants, une portion a disparu d'une façon complète, transformée en eau et en acide carbonique. Une autre, qui a subi une combustion moins complète, a donné de l'acide carbonique qui s'est dégagé et de l'alcool qui est resté dans la liqueur.

Il est manifeste que ce sucre, évanoui en tant que sucre, n'a pu être con-

sommé que pour les besoins vitaux de la levure. Il y en a un chiffre absolu plus grand que tout à l'heure, pour un poids de levure plus faible, parce que l'opération a duré plus longtemps, et que les besoins vitaux d'une cellule quelconque peuvent être, il est vrai, plus ou moins grands, mais ils se proportionnent à la durée de sa vie.

Nous pouvons évidemment faire encore un pas de plus, et dire que ces besoins vitaux sont des besoins respiratoires. La respiration est l'essence du phénomène de nutrition. Du sucre disparu, ce qui a été intégralement brûlé peut être attribué aux cellules de la surface ayant eu le contact de l'air, comme dans la première expérience; l'autre, qui reste en partie à l'état d'alcool, aux cellules de la profondeur. Mais il n'y a pas évidemment, entre ces deux catégories de cellules, de délimitation nette. Celles du fond ont pu venir à la surface entraînées par les bulles d'acide carbonique qui se forment au milieu d'elles, et être remplacées dans les profondeurs par des cellules de la surface; c'est donc à l'activité respiratoire des mêmes cellules que nous sommes conduits à rapporter et la combustion totale d'une partie du sucre, et la combustion partielle d'une autre portion, dont la moitié environ nous reste à l'état d'alcool dans la liqueur.

Si cet alcool était pour nous un produit aussi indifférent que l'est l'acide carbonique, nous ne verrions en lui que le témoin d'une oxydation incomplète du sucre, et nous ne nous en préoccuperions pas autrement. Mais l'alcool est un produit précieux, et la levure, qui nous le donne, a d'autant plus de valeur à nos yeux qu'avec une même quantité de sucre, elle en fournit davantage. Son pouvoir comme ferment se mesure à cette balance. Il est vrai que nous prenons ici le mot ferment au point de vue industriel, mais sa signification scientifique n'est pas en désaccord, comme nous allons le voir, avec sa signification usuelle, et le caractère essentiel du pouvoir comme ferment est le même dans les deux cas. Or, il est évident que dans la première expérience ce pouvoir est nul, et qu'il est très faible dans la seconde, puisqu'il n'y a au maximum qu'un cinquième ou un quart du sucre qui subisse la fermentation alcoolique. De là deux conclusions :

La première c'est que ce pouvoir ferment n'est pas en rapport avec l'activité vitale mesurée par la quantité de sucre disparue dans un temps donné. Notre première expérience est celle qui a eu la durée la plus courte, où le bourgeonnement a été le plus actif, et il n'y a pas eu d'alcool produit.

La seconde conséquence est que le pouvoir ferment paraît au contraire lié aux conditions physiologiques d'existence des cellules, que celles-ci soient anciennes ou qu'elles soient de nouvelle formation. Ce que nous savons déjà nous autorise à croire que nous l'augmenterons en rendant plus difficile l'accès de l'air, d'où résultera, d'un côté, un poids plus faible de levure produite, et une moins grande quantité de sucre employé à la bâtir; de l'autre, une moins grande proportion de sucre brûlé en pure perte pour le fabricant d'alcool, et une proportion plus grande transformée en alcool et en acide carbonique. Il y aura donc gain des deux côtés. Voyons si l'expérience confirme cette idée préconçue qui n'a encore pour elle que la sanction imparfaite de notre seconde expérience.

Nous l'avons faite dans une cuvette plate, découverte, de façon à rendre aussi facile que possible la diffusion de l'acide carbonique produit dans le liquide et l'arrivée de nouvel air. Répétons-la dans une grande fiole, au fond de laquelle nous mettrons le liquide sucré en couche mince. Prenons par exemple la fiole représentée fig. 45, disposée à la façon d'un ballon à deux cols, afin de pouvoir priver de germes étrangers le liquide fermentescible, par une ébullition préalable, et de l'ensemencer dans des conditions de pureté absolue. L'air reste en communication avec l'extérieur par le tube effilé, mais comme il est très calme à l'intérieur, et que l'acide carbonique forme bientôt à la surface du liquide une couche tranquille, le liquide, après s'être aéré à l'origine, est bientôt à l'abri de l'oxygène. Dans ces conditions, la disparition du sucre est encore rapide. Dans une expérience de M. Pasteur, avec 10 grammes de sucre, on a obtenu $0^{gr},44$ de levure, ce qui nous conduit au rapport 23 entre le poids du sucre et le poids de levure. Ce rapport était 10 tout à l'heure. On voit que nous nous élevons.



Fig. 45.

La proportion de sucre devenue de l'alcool est plus grande que dans les expériences précédentes, mais un fabricant trouverait encore qu'il y a perte. Rapprochons-nous des conditions dans lesquelles il se place lui-même. Mettons le liquide en épaisseur, dans la même fiole que plus haut, fermée ou non fermée, peu importe, parce que l'acide carbonique qui va se dégager sera une protection suffisante contre l'arrivée de l'air. Cette fois, la fermentation est plus longue, le poids de levure plus faible, car le rapport entre le poids du sucre disparu et le poids de levure formée sera, par exemple, de 75, trois fois plus grand que précédemment. Par contre, nous retrouverons, à l'état d'alcool, les mêmes proportions de sucre que dans les fermentations industrielles.

Faisons un pas de plus. Le liquide aéré dans lequel nous avons introduit notre levure, dans l'expérience qui précède, a eu à l'origine, au-dessus de lui et pendant les premiers temps du bourgeonnement de la levure, une petite quantité d'air dans laquelle il a pu puiser. De plus, la levure qu'on a introduite comme

semence venait du contact de l'air. Attachons-nous à éviter ces deux circonstances, dont la seconde, comme nous le verrons plus tard, est loin d'être aussi indifférente qu'on le croirait au premier abord.

Voici pour cela le dispositif adopté par M. Pasteur :

Il a pris un ballon de 3 litres de capacité, à deux tubulures, l'une recourbée formant tube abducteur pour les gaz, l'autre droite, munie d'un robinet de cristal, comme l'indique la fig. 46, et il a rempli complètement ce ballon d'eau de levure pure, sucrée à 5 p. 100 de sucre candi, sans qu'il restât la moindre trace d'air au-dessus du robinet non plus que dans le tube abducteur; mais ce moût artificiel avait été aéré. La tubulure recourbée plongeait dans un vase de



Fig. 46.

porcelaine plein de mercure, établi sur un solide support; dans le petit entonnoir cylindrique qui surmonte le robinet, entonnoir dont la capacité est de 10 à 15 centimètres cubes, on mit en fermentation, à 20 ou 25°, 5 ou 6 centimètres cubes de liquide sucré avec une trace de levure qui se multiplia rapidement, provoqua la fermentation, et forma bientôt un petit dépôt de levure au fond de l'entonnoir, au-dessus du robinet. A ce moment, on a ouvert le robinet, et un peu du liquide de l'entonnoir a pénétré dans le ballon, chassant devant lui le petit dépôt de levure, qui vint former semence pour le liquide sucré contenu dans le ballon. On peut introduire de cette manière aussi peu de levure qu'on le désire, une quantité pour ainsi dire impondérable. La levure semée se multiplie rapidement et détermine la fermentation, dont le gaz acide carbonique se dégage sur le mercure. En moins de douze jours, tout le sucre avait disparu, la fermentation était complète. Un dépôt sensible de levure reposait sur les parois du ballon Recueilli et desséché, il pesait 2gr,25. Il est manifeste que

dans cette expérience la totalité de la levure formée, si elle a besoin d'oxygène pour vivre, n'a pu en absorber au maximum que le volume qui s'en était dissous à l'origine dans le liquide sucré, quand celui-ci avait été exposé à l'air avant d'être introduit dans le ballon. Or, l'expérience montre que ce volume ne dépasse pas 16^{cc},5, pesant moins de 23 milligrammes.

Nous voilà loin de la respiration active des moisissures aux dépens de l'oxygène libre; nous voilà loin même de la respiration de la levure immergée, lorsque, comme dans notre première expérience, on la fait vivre dans un liquide en grande surface et largement aéré, ou bien lorque, comme dans la seconde, on l'ensemence en présence d'un volume d'air assez grand, à l'intérieur d'une grande fiole dont elle occupe le fond. Dans ce dernier cas, où sa respiration est plus embarrassée qu'à l'air libre, l'expérience montre qu'il y a plus de 400 centimètres cubes d'oxygène absorbés, ou de 600 milligrammes, pour la production d'un gramme de levure. C'est un nombre bien inférieur à celui des moisissures vulgaires qui consomment plusieurs fois leur poids d'oxygène, mais bien plus grand que celui de la levure dans les dernières expériences que nous venons de citer. Si les 2^{gr},25 que nous avons trouvés dans notre ballon n'avaient pu vivre qu'avec de l'oxygène, en d'autres termes, si leurs cellules n'avaient pu se multiplier qu'en absorbant de l'oxygène libre, l'absorption n'eût pas été moindre de 931 centimètres cubes. Elle n'a été au maximum que de 16^{cc},5. La majeure partie des globules composant ces 2^{gr},25 se sont donc évidemment multipliés à l'état de plante anaérobie.

Nous pouvons encore pousser la privation d'oxygène plus loin. Reprenons pour cela l'expérience qui précède, mais dans les conditions suivantes : après avoir rempli notre ballon d'eau de levure sucrée, faisons bouillir le liquide afin d'en chasser tout l'air qu'il renferme. A cet effet, plaçons le ballon, comme le montre la fig. 47, sur un fourneau à gaz, et plongeons son col dans un liquide sucré identique à celui du ballon, placé dans une capsule de porcelaine, et qu'on peut chauffer à l'aide d'un bec de gaz. Faisons bouillir simultanément le liquide du ballon et celui de la capsule, puis laissons refroidir l'ensemble, de façon à ce que, pendant le refroidissement, il ne rentre dans le ballon que du liquide qui a bouilli. Dans ces conditions, on ne laisse pas plus de 1 milligramme d'oxygène dissous dans les 3 litres de liquide que contient le ballon.

Mettons à ce moment en fermentation, avec la levure pure, quelques centimètres cubes de liquide sucré, au préalable introduits bouillants dans l'entonnoir que porte le ballon, et protégés contre les germes de l'air par un tube effilé recourbé, de façon à ce que la fermentation, commencée pure, se maintienne pure. Puis, lorsque ce liquide de l'entonnoir est en pleine fermentation, et que la levure y est jeune et active, introduisons comme tout à l'heure un peu de semence dans le liquide du ballon. Une fermentation va commencer, assez rapide tout d'abord, se ralentissant ensuite peu à peu, et qui pourra devenir interminable. Quand elle est finie, on constate qu'il s'est produit peu de levure, 1 gramme pour 80 ou 90 grammes de sucre fermenté, et que la presque totalité de celui-ci a subi une fermentation alcoolique régulière.

Poussons enfin les choses à l'extrême. Dans l'expérience que nous venons de faire, il est rentré dans le ballon un peu de liquide aéré provenant de la cap-

sule; éliminons-le en maintenant l'ébullition dans la capsule, pendant que nous refroidirons artificiellement le ballon, de façon à ce qu'il n'y rentre que du liquide privé d'air. De plus, nous avons ensemencé le liquide du ballon avec la levure de l'entonnoir, pendant qu'elle était encore jeune et active, et sous l'influence de l'oxygène avec laquelle elle avait été en contact avant d'arriver dans l'entonnoir. Attendons maintenant que la fermentation soit achevée pour ensemencer le ballon, qui ne recevra qu'une levure usée, visiblement vieillie. Alors la fermentation est interminable. Dans une expérience de M. Pasteur, elle durait

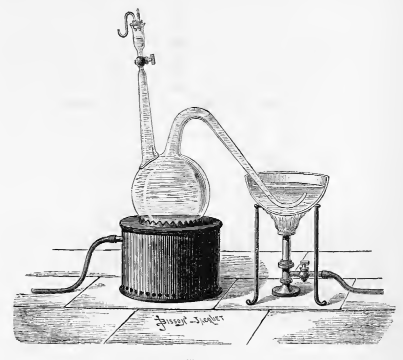


Fig. 47.

encore après trois mois. On l'a arrêtée au bout de ce temps. On a vu qu'il n'avait fermenté que 45 grammes de sucre sur les 150 que renfermait le ballon, et qu'il s'était formé seulement $0^{gr},255$ de levure. C'est *une* partie de levure produite pour 176 de sucre transformé.

Il est évident qu'ici la combustion directe du sucre aux dépens de l'oxygène dissous a été nulle. La production des tissus de la levure n'a consommé de son côté que bien peu de sucre. Tout celui qui a disparu a subi la fermentation alcoolique. Corrélativement à la disparition du gaz oxygène à l'intérieur et à l'extérieur du liquide, nous voyons s'élever le pouvoir ferment du végétal, caractérisé par le poids de sucre que l'unité de poids de levure peut transformer en alcool et en acide carbonique. Nous voyons en même temps diminuer l'activité de la vie cellulaire et la puissance de reproduction.

Pourrions-nous aller plus loin dans cette voie? Qu'arriverait-il, si nous ensemencions dans un liquide sucré, non pas, comme dans l'expérience précédente, un mélange de cellules ayant été à l'air dans leur jeunesse et de cellules nées et ayant vécu à l'abri de l'air, mais ces dernières seulement, ou bien les filles de ces dernières, la seconde génération anaérobie? On peut y arriver facilement à l'aide du dispositif suivant employé par M. D. Cochin.

Une série de boules de 40 à 50 centimètres cubes de capacité sont reliées entre elles, comme l'indique la fig. 48, par des tubes légèrement étranglés en

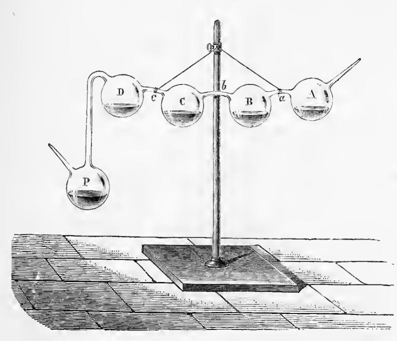


Fig. 48.

leur milieu. Dans la boule P on introduit, par la tubulure latérale qu'elle porte, une dissolution de potasse à 20 p. 100, et on ferme ensuite la tubulure à la lampe. Dans les autres boules, on introduit une infusion sucrée. Dans la première boule A, on ensemence un peu de levure pure. On fait le vide au moyen d'une pompe à mercure en faisant bouillir le liquide des boules, et lorsque l'air a été complètement enlevé, on ferme à la lampe la tubulure de la boule A. Puis on met le tout à l'étuve. Le liquide de la boule A fermente, mais péniblement. Ce sont à peu près les conditions de notre avant-dernière expérience. L'acide carbonique dégagé est absorbé par la potasse de P, ce qui maintient un vide presque parfait, et assure contre un excès de pression intérieure pouvant amener une rupture. Avant que la fermentation en A ne soit achevée, on fait passer en B une goutte du liquide de A, et on sépare la première boule en fondant à la lampe le tube qui la joint à B. Celle-ci n'a reçu que des cellules nées et développées à l'abri de l'air dans la première boule, mélangées d'une très faible quan-

tité des cellules du premier ensemencement. Nous retrouvons à peu près là les conditions de la dernière expérience de M. Pasteur. Ici aussi le développement est lent, peu abondant, quoique sensible. Mais voici ce qu'avec cet appareil, nous pouvons ajouter aux notions acquises. Ensemençons dans la troisième boule les cellules de la seconde. Cette fois-ci notre semence sera formée en grande majorité de cellules de la seconde génération née à l'abri de l'air, de quelques-unes de la première, tandis que les cellules originaires auront à peu près disparu. L'expérience montre qu'elle est toujours stérile.

Ce n'est pas qu'elle soit morte. On pourra la ranimer, si l'on n'a pas trop espacé les ensemencements, en amenant au contact du liquide un peu d'oxygène, mais elle est engourdie. Nous retrouverons ces faits quand nous étudierons les rapports de l'air avec la levure. Mais il était utile d'indiquer ici tout ce qui, dans ces phénomènes, se rapporte au pouvoir-ferment et à la théorie générale de la fermentation que nous aurons bientôt à donner.

Nous sommes, comme on voit, en présence d'une chaîne continue et régulière. Nous avons vu la levure vivre d'abord comme les moisissures ordinaires et être un agent de combustion. Nous l'avons vue ensuite, au fur et à mesure que nous lui supprimions l'air, inaugurer un autre mode d'existence, d'abord confondu avec le premier, masqué par lui, mais devenant peu à peu prédominant, et finissant par persister seul, lorsque nous avons eu rendu le premier tout à fait impossible.

Mais les peines que nous avons eues pour arriver à ce dernier résultat, nous montrent que nous nous sommes éloignés un peu des conditions de vie normale et physiologique du végétal levure, et les résultats de l'expérience de M. Cochin sont venues nous confirmer dans cette idée. Les difficultés que nous avons dû surmonter pour montrer dans la levure un pur agent de combustion, nous montrent aussi que, là encore, nous étions dans des conditions anormales de nutrition de notre plante. En réalité, la levure n'est ni un végétal aérobie, ni un végétal anaérobie. Elle a un caractère intermédiaire. Il lui faut très peu d'air, mais il lui en faut. Il y a des espèces végétales qui en demandent davantage. Nous les connaissons. Il y en a qui périraient par excès d'oxygène dans des milieux où la levure en a à peine assez, et qui sont d'aussi purs anaérobies que le pénicillium est un pur aérobie. Nous en avons vu un exemple dans le vibrion butyrique et nous apprendrons à les connaître bientôt avec plus de précision.

Pour le moment, ce qu'il importe de remarquer, c'est la relation expérimentale qui lie la privation d'oxygène à l'apparition du caractère ferment. Nous nous sommes imposé, dans ce chapitre, l'obligation de raconter des faits et de ne raconter que des faits. Nous essaierons bientôt de les relier par une théorie, mais les faits en restent et en resteront toujours indépendants. Nous n'avons pas besoin de faire appel à autre chose qu'au souvenir de ceux que nous connaissons, pour voir que le phénomène de la fermentation a déjà cessé d'être pour nous un de ces actes isolés et mystérieux sans explication possible. Il n'est que la conséquence de la vie et de la nutrition de certains êtres, dans des conditions déterminées, différentes, pour la plupart d'entre eux, de celles de leur vie ordinaire, et qui ne nous semblent normales pour la levure que par suite de l'importance exceptionnelle de son rôle comme ferment. A cet état, elle s'impose à l'attention,

et il faut des expériences délicates pour mettre en évidence sa vie sous l'influence du gaz oxygène libre. L'inverse a lieu pour les moisissures. Leur vie au grand air est le cas général, et il faut des dispositifs particuliers pour les amener à manifester leur rôle de ferment. Mais nous savons maintenant, grâce aux travaux de M. Pasteur et de ses élèves, qu'une chaîne continue réunit tous ces êtres en apparence si dissemblables, et qu'il n'y a chez eux que des différences du plus au moins. Nous allons retrouver des faits de même nature en dehors du monde des infiniment petits, en étudiant les propriétés des cellules végétales ou animales.

BIBLIOGRAPHIE

PASTEUR. — *Études sur la bière*, 1876.
D. COCHIN. — *Ann. de chim. et de phys.*, 1880.

CHAPITRE XXI

VIE AÉROBIE ET ANAÉROBIE DES CELLULES

Les faits consignés au chapitre précédent, envisagés dans leur ensemble, prouvent que la propriété d'être ferment n'est pas une propriété de structure, inhérente à la constitution de la cellule, et représentant l'une des manifestations nécessaires de son existence. C'est une propriété de fonction, nullement essentielle, variable avec les circonstances extérieures et le mode de nutrition. La levure diffère des autres végétaux en ce qu'elle peut s'accommoder mieux d'un certain changement dans les conditions où on la fait vivre, et manifester alors des phénomènes nouveaux, d'une grande importance théorique, c'est vrai, mais qui ont surtout appelé l'attention des hommes par leur importance pratique et leur valeur industrielle.

Cette manière de voir et d'interpréter les phénomènes avait été émise en 1861, par M. Pasteur, à la suite de ses premières études sur la fermentation alcoolique. Il l'avait appuyée de deux ordres de faits bien curieux.

Le premier était qu'on pouvait faire vivre et développer la levure, à la condition de lui fournir beaucoup d'air, dans un liquide organique non sucré, tel que l'eau de levure. La levure vit alors comme un végétal ordinaire, sans amener aucune fermentation. C'est une expérience qui a souvent été répétée depuis, et sur laquelle nous reviendrons pour en tirer d'importantes conclusions, mais à un autre point de vue que celui qui nous préoccupe pour le moment.

Le second fait apporté par M. Pasteur était qu'on pouvait même offrir à la levure, dans le milieu purement albumineux dont nous avons parlé tout à l'heure, une substance sucrée non fermentescible, comme le sucre de lait, sans voir survenir de fermentation, bien que l'augmentation de poids de la levure fût telle qu'il était évident qu'elle consommait du sucre.

Voici, par exemple, les résultats d'une expérience : on ensemence dans un ballon à deux cols, comme celui de la fig. 46, une trace de levure dans 150 centimètres cubes d'eau de levure contenant 2,5 p. 100 de sucre de lait. Trois mois après, on recherche la présence de l'alcool dans le liquide. Il n'y en a pas la plus petite quantité, et pourtant, en recueillant sur un filtre la levure, on en trouve un poids de 50 milligrammes à l'état sec. Cette levure s'était donc développée sans donner lieu à la moindre fermentation. Elle vivait comme une

moisissure, absorbant l'oxygène, dégageant de l'acide carbonique, et c'est même sans doute à la privation d'oxygène qu'il faut attribuer son développement si lent dans cette expérience. Dès qu'elle a eu absorbé tout celui du ballon, elle n'a eu à sa disposition que celui qui lui arrivait par diffusion au travers de la tubulure effilée ou par suite des variations de température. Mais elle n'est pas devenue ferment. Serait-ce que sa vie et son organisation de moisissure la rendraient incapable de manifester ce caractère? Non, car en disposant un second ballon identique au premier, qui se comporte de la même manière, et où, au bout du même temps, on remplace par du moût de bière le liquide renfermant le sucre de lait, on voit en quelques heures apparaître une fermentation régulière et active.

« En résumé, disait M. Pasteur en 1861, la levure de bière se comporte absolument comme une plante ordinaire, et on peut espérer rencontrer des conditions dans lesquelles certaines plantes inférieures vivraient à l'abri de l'air en présence du sucre, en provoquant alors la fermentation de cette substance à la manière de la levure de bière. »

Lorsqu'en 1870 M. Pasteur revint, à la suite d'autres travaux, sur ces questions de fermentation, ces idées n'avaient fait que s'affermir dans son esprit, il était devenu plus audacieux et plus confiant, et ce n'était pas seulement chez les plantes inférieures, c'était chez la plupart des êtres vivants qu'il pensait pouvoir trouver des phénomènes de fermentation consécutifs à des changements dans ce mode de nutrition des cellules.

« Un jour, dit-il, p. 259 de ses *Études sur la bière*, exposant ces idées dans mon laboratoire, en présence de M. Dumas, qui était très disposé à les trouver justes, j'ajoutai : Je gagerais que si je plonge une grappe de raisin dans le gaz acide carbonique, il se fera aussitôt de l'alcool et de l'acide carbonique par un travail nouveau dans les cellules de l'intérieur des grains, qui agiront alors à la manière des cellules de levure. Je vais faire cette expérience, et demain à votre arrivée (j'avais alors la bonne fortune que M. Dumas revînt travailler dans mon laboratoire), je vous en rendrai compte. Mes prévisions se réalisèrent; puis je recherchai, en présence de cet illustre maître et avec sa participation, des cellules de levure dans les grains; il nous fut impossible d'en trouver.

« Encouragé par ce résultat, j'opérai de nouveau sur des raisins, sur un melon, sur des oranges, sur des prunes, sur des feuilles de rhubarbe qu'on venait de cueillir dans le jardin de l'École normale, et, dans tous les cas, ces substances, plongées dans le gaz acide carbonique, donnèrent lieu à une production d'alcool et d'acide carbonique. Voici le résultat surprenant qu'offrirent des prunes de Monsieur. Le 31 juillet 1872, j'introduis vingt-quatre de ces prunes sous une cloche de verre que je remplis ensuite de gaz acide carbonique. Les prunes avaient été cueillies la veille. A côté de la cloche on en avait placé vingt-quatre autres, non recouvertes. Huit jours après, pendant lesquels il s'était dégagé de la cloche un volume notable de gaz acide carbonique, on retira les prunes et on les compara avec celles qui étaient restées à l'air.

« La différence était saisissante, presque incroyable : tandis que les prunes entourées d'air (on sait depuis longtemps par les expériences de Bérard que, dans cette dernière condition, les fruits absorbent l'oxygène de l'air et déga-

gent du gaz acide carbonique en volume à peu près égal) étaient devenues très molles, très aqueuses, très sucrées, les prunes sortant de dessous la cloche étaient très fermes, dures, à chair non aqueuse, et avaient perdu beaucoup de sucre. Enfin soumises, après qu'on les eût écrasées, à la distillation, elles fournirent 6^{gr},5 d'alcool, plus de 1 p. 100 du poids total des prunes. Comment pourrait-on mieux que par ces faits établir l'existence dans les fruits d'un travail chimique considérable, travail qui a emprunté la chaleur nécessaire à sa manifestation, à la décomposition du sucre présent dans les cellules? Aussi, et c'est une circonstance très digne d'attention, dans toutes ces expériences, on constate un dégagement de chaleur dont les fruits et autres organes sont le siège, dès qu'ils sont plongés dans le gaz carbonique. Cette chaleur est telle qu'on s'en aperçoit quelquefois à la main en touchant alternativement deux côtés de la cloche, lorsqu'un de ces deux côtés est en contact avec les objets. On s'en aperçoit encore à la buée de vapeur d'eau condensée en gouttelettes sur celles des parois de la cloche qui reçoivent moins directement l'influence de la chaleur de décomposition du sucre des cellules. »

On voit quelle précision l'expérience répondait à cette sorte d'intuition des phénomènes, et quel appui prêtaient à leur tour ces phénomènes aux idées de M. Pasteur sur la fermentation. Toutefois, si c'était la première fois que des faits de cette nature trouvaient une formule explicative et étaient rattachés à une idée générale, ce n'était pas la première fois qu'ils faisaient leur apparition dans la science.

En 1821, dans un travail très remarquable, Bérard avait démontré, au sujet de la maturation des fruits, deux propositions importantes.

Il avait fait voir d'abord que tous les fruits, même ceux qui sont encore verts, exposés au soleil, absorbent le gaz oxygène et dégagent un volume à peu près égal d'acide carbonique. Ce sont là les conditions générales de leur maturation.

Il avait montré ensuite que lorsqu'on les laisse dans l'atmosphère limitée où ils ont remplacé tout l'oxygène par de l'acide carbonique, ils continuent à dégager de ce dernier gaz en quantité notable, sans qu'il survienne aucune avarie, « comme par une sorte de fermentation », en perdant leur sucre. En sortant de ce milieu, le fruit n'est pas pourri, bien que son aspect et son goût se soient modifiés. Il semble en particulier être devenu plus acide, mais cela tient à ce qu'il est moins sucré, car son acidité réelle n'a pas changé.

Dans cette analyse exacte des phénomènes, Bérard en avait laissé échapper un des plus importants, qui a été pour la première fois mis en lumière en 1869 par MM. Lechartier et Bellamy, c'est que dans les fruits ainsi traités il se forme de l'alcool, en l'absence complète de cellules de levure de bière.

Après avoir constaté le fait, ces deux expérimentateurs n'en avaient prudemment déduit aucune conséquence théorique ni proposé aucune explication. Tout ce qu'ils avaient pu faire, et c'était déjà assez difficile, c'était de constater l'absence des cellules de levure; mais bien qu'on crût à cette époque que la levure de bière était le seul être microscopique capable de transformer le sucre en alcool, rien ne prouvait qu'il n'y en eût pas un autre, doué de cette propriété, et ayant échappé, pendant l'observation microscopique, à une attention soi-

gneuse, mais qui n'était pas dirigée sur lui. En fait, j'ai appris à connaître depuis et nous retrouverons bientôt un petit bâtonnet microscopique, pouvant donner physiologiquement de l'alcool lorsqu'il vit dans des liquides sucrés. Il est très ténu, il est immobile, il peut échapper à l'observation quand on ne le recherche pas; de plus, il est extrêmement répandu.

Toutefois, si son existence peut servir d'argument contre telle ou telle expérience, elle n'infirme en rien les résultats de leur ensemble, surtout depuis qu'à la suite de l'interprétation qu'en a proposée M. Pasteur, on les a tellement multipliées. La même cause d'erreur ne peut évidemment avoir agi partout. De plus, cette interprétation fournit une explication naturelle des phénomènes, et MM. Lechartier et Bellamy s'y sont ralliés. Ils ont même continué, en la prenant pour guide, l'étude de la question, et ce sont leurs résultats que nous allons résumer ici.

Leur procédé d'expérience est le même que celui de Bérard; il consiste à enfermer des fruits dans un vase bien clos muni d'un tube de dégagement, et qu'on abandonne à la température ordinaire. Il y a, à l'origine, un repos apparent qui correspond au temps pendant lequel le fruit absorbe l'oxygène de l'air qui l'entoure, et donne à sa place de l'acide carbonique. Puis un dégagement commence, plus ou moins rapide, plus ou moins prolongé. Il finit assez brusquement. Quand il est terminé, le fruit reste inerte, sans changement apparent, et peut rester ainsi pendant de longs mois, sans fournir une seule bulle de gaz. Quand on le remet à l'air, on s'aperçoit qu'il a subi des modifications profondes. Il devient brun dans toute sa masse, comme les fruits blets ou pourris. Son tissu cellulaire est en partie ou même complètement désagrégé. Il est des cas où l'on n'y reconnaît plus que de rares cellules, lesquelles sont même loin d'être intactes. Des poires Duchesse, au bout d'un an, ressemblaient à une masse de sirop revêtue d'un sac. Une pomme reinette, au bout de six mois, avait acquis la consistance d'une pomme cuite.

Ce sont là des phénomènes que nous retrouverons pour la levure. C'est une sorte d'autodigestion. Ils correspondent à une prolongation exagérée de la vie des éléments cellulaires en présence de matériaux impropres à leur nutrition régulière, c'est-à dire à un terme extrême auquel nous ne sommes pas encore arrivés pour la levure. Mais voici qui rappelle mieux les périodes que nous connaissons dans la vie de ce petit végétal.

Nous savons qu'ensemencé dans un liquide neuf et aéré, il se reproduit activement et donne un dégagement gazeux qui va en augmentant, passe par un maximum, et décroît au moment où la levure commence à perdre le souvenir de son contact avec l'oxygène. Un fruit qui grossit et qui mûrit donne un spectacle tout pareil. Lorsqu'il est encore jeune, ses cellules absorbent rapidement l'oxygène de l'air, et donnent ensuite un dégagement d'actif acide carbonique. Mais ce dégagement ne dure pas longtemps, et le rapport du volume total de gaz au poids du fruit est plus faible qu'il ne sera plus tard.

A mesure que le fruit grossit, ce volume de gaz augmente et passe par un maximum, comme l'indiquent les chiffres suivants, qui se rapportent à des pommes de Locard :

Date de la mise en flacon.	Poids du fruit.	Vol. de gaz recueilli.	Vol. de gaz pour 1gr de fruit.
—	—	—	—
23 juin.	12gr,8	85cc	6cc,7
25 juin.	16 ,1	140	8 ,7
—	24 ,2	290	10 ,2
16 juillet.	32 ,6	391	12 ,0
5 août.	47 ,9	648	13 ,5
12 nov.	124	868	7 ,0

Ces fruits mûrissent vers le milieu d'octobre. On voit que le maximum de l'activité vitale des cellules précède de beaucoup la maturité. Quand celle-ci s'est produite, on observe une grande différence entre les fruits qui peuvent se conserver et ceux qui veulent être mangés de suite. Ces derniers conservent, après maturité, l'activité vitale de leur jeunesse et la dépensent dans un temps très court. Chez les autres, comme chez les pommes de Locard, qui appartiennent à la catégorie des fruits de conserve, la puissance d'absorption d'oxygène et de production d'acide carbonique devient plus faible chez les cellules et, de plus, elles mettent un temps trop long à la dépenser. Tandis qu'une pomme de Locard très jeune manifeste une activité suffisante pour épuiser en 20 jours sa puissance de production d'acide carbonique, lorsqu'elle la possède à son maximum, le fruit cueilli en temps convenable met 160 jours pour produire un volume de gaz, plus grand, il est vrai, en valeur absolue, mais moitié moindre, si on le rapporte au poids des cellules actives.

A partir du moment de la maturité, le déclin arrive. Si l'on cueille le même jour un certain nombre de pommes de Locard, qu'on conserve ensemble, pour les mettre en expérience à des époques diverses et de plus en plus éloignées, on constate non seulement que le volume total d'acide carbonique qu'elles peuvent dégager diminue d'autant plus que la pomme était plus vieille au moment de la mise en flacons, mais encore que l'activité spécifique des cellules, mesurée, comme plus haut, par le volume de gaz dégagé par 1 gramme de fruit, va aussi en décroissant, ou plutôt continue à aller en décroissant, car nous avons vu plus haut qu'il atteignait son maximum avant la maturité. Voici, pour donner une idée de ce fait, un tableau qui, uni à celui qui précède, complète l'histoire d'une pomme de Locard, depuis son origine jusqu'à sa maturité la plus avancée.

Des pommes Locard, cueillies le 20 octobre, ont été pesées le 24 et mises en expérience aux époques indiquées au tableau suivant. Les volumes de gaz recueillis ont été rapportés au poids des fruits à la date du 24 octobre.

Date de la mise en flacon.	Poids du fruit.	Vol. de gaz recueilli.	Vol. de gaz pour 1gr de fruit.
—	—	—	—
12 novembre.	124gr	868cc	7cc,0
17 février.	123 ,5	612	4 ,6
27 avril.	101	350	3 ,46
18 juin.	102	172	1 ,68

Ce dernier fruit a été placé dans une atmosphère d'acide carbonique dès le début de l'expérience. Au mois de novembre, les pommes étaient dures et

avaient une teinte verte. Au mois de juin suivant, elles étaient jaunes et commençaient à se rider.

On voit, en résumé, que les cellules des pommes ont, comme celles de la levure, une jeunesse et une vieillesse séparées par une époque de maximum d'activité, que les unes comme les autres, tout en vivant d'ordinaire avec l'oxygène de l'air, peuvent, à un moment donné, s'accommoder d'en être privées et commencer une nouvelle existence, caractérisée par une production d'acide carbonique, aux dépens des matériaux nutritifs accumulés autour d'elles, et par la formation de l'alcool.

Un grand nombre de fruits et même de feuilles, étudiés par MM. Lechartier et Bellamy, ont montré les mêmes propriétés. Il est remarquable que les feuilles, dont la durée est nécessairement très limitée, se comportent, au point de vue de l'activité et de la durée de leur vie cellulaire, comme les fruits qui ne sont pas de conserve, c'est-à-dire qu'elles dégagent beaucoup d'acide carbonique, mais que la production de gaz est de courte durée. Voici un tableau qui résume l'ensemble des résultats de MM. Lechartier et Bellamy.

	Poids des fruits.	Volume de gaz pour 1 gramme.
Poire Duchesse, très jeune	39gr,5	7cc,4
Poire Belle-Angevine	246	9 ,8
Poire Martin-sec	169	8 ,4
Poire Doyenné d'hiver	191	9 ,65
Poire Belle-Bruxelles, très jeune	46 ,1	9 ,06
Figues, avant maturité	»	10 ,6
Reinette de Caux	»	7 ,2
Cerises vertes (noyau mou)	»	9 ,1
Cerises mûres	»	3 ,9
Limons	»	2 ,76
Groseilles à grappes, suivant leur développement	»	de 0,5 à 2,6
Feuilles de cerisier	»	8 ,3
Feuilles de groseiller	»	8 ,3
Feuilles de betteraves	»	10 ,6
Châtaignes	»	22

Cette vie anaérobie semble donc être un fait général. Mais y a-t-il toujours de l'alcool produit en même temps que de l'acide carbonique, et en quelles proportions? Voici, pour répondre à cette question, un tableau donnant, pour quelques fruits, le temps écoulé depuis la mise en flacons jusqu'au moment où le dégagement s'est arrêté, le temps écoulé entre la fin du dégagement et l'ouverture du flacon, le volume de gaz dégagé et la quantité d'alcool produite.

	Durée de vie active.	Durée de l'arrêt.	Volume de gaz dégagé.	Alcool produit.
Poire Belle-Angevine	150 j.	110 j.	3 897cc	11gr,4
—	195	31	2 552	5 ,6
—	170	51	2 424	4 ,5
Poire Doyenné d'hiver	240	36	1 840	3 ,5
Poire Duchesse	70	71	1 400	2 ,7
Poire Martin-sec	190	34	1 488	1 ,8

Je supprime un grand nombre d'expériences dans lesquels on s'est contenté

de constater la présence de l'alcool, sans en faire le dosage. En voilà du reste assez pour montrer que le fait est tout à fait général, et que la plupart des cellules végétales peuvent manifester des phénomènes de fermentation lorsqu'on les fait vivre à l'abri de l'air.

Pourtant cette loi générale présente des particularités ou des exceptions qu'il est utile de signaler.

La première est relative aux phénomènes qui se passent dans les betteraves. On sait que lorsqu'elles sont saines, elles renferment, jusqu'au moment de la floraison, du sucre cristallisable qui, sous sa forme actuelle, est inattaquable par les cellules de levure. Il a besoin d'être d'abord transformé par l'action d'une diastase que sécrètent ces cellules. D'après des expériences de M. Cochin, il semblerait qu'il en soit de même pour les cellules qui composent le tissu de la racine. Celles-ci ne renferment pas d'une façon constante le ferment inversif. Tant qu'il n'y a pas apparu, la betterave est incapable d'attaquer son sucre, et de donner de l'alcool lorsqu'on la fait vivre dans l'acide carbonique. Elle échappe donc à la loi générale, mais nous voyons pourquoi. Son sucre n'est pas pour elle un aliment. Les choses changent aussitôt qu'apparaît la diastase active. Les choses peuvent même changer plus tôt et la betterave donner de l'alcool avant l'apparition régulière de cette diastase dans ses cellules. Mais alors on trouve, dans son intérieur, des végétations et des êtres microscopiques divers, d'ordinaire incapables par eux-mêmes de donner de l'alcool, mais vivant au dépens du sucre, produisant pour cela la diastase qui le transforme en sucre interverti, et le mettant dès lors à même de subir l'action des cellules de la racine. Toutefois, lorsqu'elle prend cette tournure, l'expérience reste sujette à contestation, car il n'est pas sûr que tout ou partie de l'alcool produit ne provienne directement de ces bâtonnets microscopiques qu'on trouve, chose singulière, presque en tous les points du tissu.

Une autre particularité curieuse a été mise en évidence par M. Muntz chez les champignons. Braconnot y a trouvé, on le sait, dans certaines espèces, une matière sucrée qu'il a nommée sucre de champignons, et dont des recherches ultérieures ont montré l'identité avec la mannite. Dans d'autres espèces, M. Muntz a découvert une autre matière sucrée qu'il a montré être identique avec le tréhalose du tréhala et le mycose découvert par Mitscherlich dans l'ergot du seigle.

L'*agaricus cornucopia*, *maculatus*, *scyphoïdes*, *albus*, *campestris*, *le cantharellus cibarius* ne contiennent que de la mannite.

L'*agaricus eringii*, *sulfureus*, *muscarius*, *columbetta*, *le lactarius viridis* ne contiennent que du tréhalose.

L'*agaricus fusipes*, *lateritius*, *cæsareus*, *le lycoperdon pusillum* renferment de la mannite et du tréhalose, et tel est aussi le cas de la plupart des champignons. Il en est même qui, jeunes, ne contiennent que du tréhalose, et vieux, un mélange des deux.

M. Muntz a aussi trouvé de la mannite dans le penicillium, du tréhalose dans le mucor mucedo, ce qui nous ramène, comme on voit, aux êtres microscopiques, et constitue un trait d'union de plus entre les diverses espèces vivantes auxquelles nous avons déjà trouvé tant de propriétés communes.

Or, ces champignons, d'un autre côté, lorsqu'ils sont au contact de l'air, absor-

bent de l'oxygène et en font de l'acide carbonique. On peut donc s'attendre à les voir donner de l'alcool lorsqu'on les fera vivre dans l'acide carbonique. C'est ce qu'ils font en effet. M. Muntz a retiré 3^{cc},5 d'alcool de 200 grammes d'agaricus campestris, placés pendant quarante-huit heures dans l'acide carbonique. Mais voici la particularité curieuse, c'est que lorsque la matière sucrée dont dispose l'agaric est de la mannite, il y a en même temps dégagement d'hydrogène avec l'acide carbonique. Or, la mannite fermente difficilement, il est vrai, avec la levure de bière, mais en fermentant elle donne aussi de l'hydrogène. L'identité du mode de décomposition de la molécule sucrée fournit une autre preuve de l'identité de vie cellulaire dans les deux espèces d'êtres.

Pourtant, à toutes les expériences que nous venons de rapporter, on pourrait, en se montrant, il est vrai, d'une sévérité exagérée, faire le reproche d'avoir toutes porté sur des parties détachées de la plante, fruits, racines, feuilles. Il est certain que tous ces organes ne sont pas dans les conditions normales de la vie. On peut alors se demander si les propriétés que nous leur avons trouvées n'ont pas quelque chose de pathologique, ce qui leur enlèverait évidemment un peu de leur intérêt. M. Muntz avait, il est vrai, constaté que les champignons qui avaient donné de l'alcool, lorsqu'on les avait fait vivre dans l'acide carbonique, pouvaient, ramenés à l'air, reprendre leur respiration ordinaire à l'aide de l'oxygène. Mais le champignon n'est qu'un organe de fructification séparé de son mycélium nutritif.

Il y avait donc quelque intérêt à montrer que les mêmes phénomènes pouvaient être observées dans la cellule vivante. M. Muntz a opéré pour cela sur le végétal entier, en pleine végétation, non arraché du sol dans lequel il s'était développé, et encore apte, l'expérience terminée, à reprendre ses fonctions ordinaires au contact de l'oxygène atmosphérique.

Il a fait vivre pour cela des plantes dans l'azote, gaz inerte par excellence, n'ayant pas sur la végétation l'influence nuisible que Saussure et M. Boussingault ont reconnue à l'acide carbonique.

Le végétal soumis à l'expérience était placé, tout empoté (fig. 49), sur un support, sous une grande cloche renversée sur un cristallisoir d'un diamètre plus grand, dans lequel on versait une dissolution de pyrogallate de potasse. L'oxygène intérieur absorbé était remplacé, par suite du jeu des pressions, par de l'air nouveau qui était désoxygéné à son tour, de sorte qu'au bout de vingt-quatre heures la cloche ne renfermait plus que de l'azote et une trace d'oxyde de carbone, provenant de l'action de l'oxygène sur le pyrogallate. Ce dernier gaz étant à peu près inerte sur les plantes, et n'existant qu'en proportions minimes, $\frac{3}{1\,000}$ environ du volume de l'azote, il n'y avait pas à faire attention à sa présence. Quand le repos était établi à l'intérieur de la cloche, on versait du mercure dans le cristallisoir pour isoler le tout de l'air extérieur.

Voici quelques-uns des résultats obtenus par cette méthode :

Deux plants de betterave vigoureux ont séjourné vingt-quatre heures dans l'azote à l'obscurité. L'un, ramené à l'air, a continué à vivre et à se développer. Dans les feuilles de l'autre, pesant 35 grammes, on a trouvé de 0^{gr},05 à 0^{gr},10 d'alcool.

Deux autres plants, plus vieux, ont séjourné quarante-huit heures dans l'azote. L'un, remis dans l'air, a poussé comme à l'ordinaire. Les feuilles de l'autre, pesant 53 grammes, ont donné de 0gr,10 à 0gr,15 d'alcool.

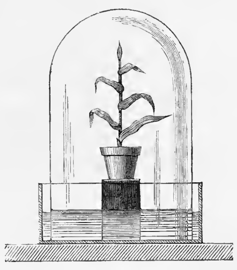


Fig. 49.

Deux autres plants ont été traités de la même façon et ont donné les mêmes résultats. Dans celui qui a été soumis à la distillation, on a trouvé de l'alcoo dans la racine comme dans les feuilles : $\frac{1,5}{1\,000}$ dans la racine, $\frac{2}{1\,000}$ environ dans les feuilles.

Treize plants de maïs, de 25 à 30 centimètres de hauteur, ont séjourné trente-six heures dans l'azote. Trois d'entre eux, non arrachés, ont continué à vivre. Les dix autres, pesant 39 grammes, ont donné de 0gr,05 à 0gr,10 d'alcool.

De même encore pour les plants de géranium, de choux, de *Lamium album*, de portulacca non fleuris. Des branches coupées de végétaux arborescents ont donné les mêmes résultats, soit à la lumière, soit à l'obscurité. D'après MM. Van Tieghem et Bonnier, les oignons des plantes bulbifères se comportent de même. On peut donc considérer comme démontré qu'en pleine vie physiologique, la cellule vivante peut, en l'absence de l'oxygène, fonctionner comme les cellules de levure et des êtres inférieurs, en produisant une véritable fermentation alcoolique.

Les tissus végétaux sont-ils seuls à pouvoir présenter ces phénomènes? Il serait étonnant qu'il en fût ainsi. M. A. Béchamp a trouvé que l'urine et le lait contenaient de l'alcool. Il est vrai que l'expérience n'a pas grande valeur, celui de l'urine pouvant provenir de l'alimentation et celui du lait de la présence presque constante, à l'intérieur de ce liquide, du petit microbe producteur d'alcool que nous retrouverons plus tard. Mais M. J. Béchamp a trouvé de l'alcool dans un foie de mouton pesant 1 840 grammes et traité immédiatement après la mort, dans des cerveaux de moutons et de bœufs, traités encore chauds. A ces

résultats, il ajoute la constatation de l'alcool dans le cerveau et les muscles d'une femme alcoolique morte de pneumonie, qui avait bu de l'alcool douze heures avant sa mort. Mais ce fait est évidemment dénué de toute force probante. Les autres sont plus convaincants. Ils ne sont malheureusement pas assez multipliés; mais ils sont assez d'accord avec la conclusion générale de ce chapitre pour que nous ayons cru devoir les rapporter.

Ubiquité de l'alcool. — Les constatations qui précèdent ont un corollaire obligé, c'est l'extrême diffusion, sinon l'ubiquité de l'alcool à la surface de la terre. Qu'il provienne de l'action de certaines espèces de microbes, ou d'un certain fonctionnement physiologique de cellules d'animaux ou de végétaux, il ne peut pas ne pas être extrêmement répandu. Produit dans le sol ou dans les eaux, dans les régions où l'oxygène commence à devenir rare, il doit, en vertu de sa volatilité, s'échapper dans l'atmosphère d'où les pluies, surtout les pluies froides, doivent le ramener au sol, et il doit accomplir ainsi un cycle de pérégrinations jusqu'au moment où il est utilisé à son tour par d'autres espèces vivantes.

Les expériences de M. A. Muntz sont en parfait accord avec ces déductions théoriques. En appliquant à la recherche de l'alcool dans l'air, le sol et les eaux, les procédés de distillation fractionnée que nous avons indiqués plus haut, il en a trouvé assez dans le terreau et les terres riches en matières organiques pour pouvoir l'extraire en nature et vérifier ses propriétés essentielles.

Les terres pauvres en contiennent assez pour qu'il soit possible de produire la réaction de l'iodoforme avec 100 ou 200 grammes de terre. L'eau de Seine et l'eau de pluie en contiennent environ un millionnième de leur volume, c'est-à-dire environ 1 gramme par mètre cube. L'eau de mer est à peu près au même niveau. La neige et les pluies froides paraissent en contenir des quantités un peu supérieures.

Elles ne peuvent l'avoir puisé que dans l'air, où il doit dès lors être possible de le retrouver. La recherche en est plus difficile et n'a pas été faite. Mais Saussure et M. Boussingault ont depuis longtemps signalé dans l'air un principe hydrocarboné, qui pourrait bien être constitué, au moins en partie, par l'alcool, dont la présence, constatée dans le sol et les eaux, a par cela même cessé d'être hypothétique dans l'air.

Nous avons terminé, avec ce qui précède, l'exposé de ce qu'il y a de fondamental dans l'action de la levure. Nous avons maintenant à entrer dans le détail, et à étudier par le menu l'ensemble des phénomènes qui constituent la fermentation alcoolique, en prenant ce mot dans le sens que lui ont donné Lavoisier et Gay-Lussac.

BIBLIOGRAPHIE

PASTEUR. — Mémoire sur la fermentation alcoolique. *Ann. de ch. et de phys.*, 1859.
— Influence de l'oxygène sur le développement de la levure et sur la fermentation alcoolique. *Bull. de la Soc. chim.* Séances des 12 avril et 28 juin 1861.

Berard. — Sur la maturation des fruits. *Ann. de ch. et de phys.*, 1821.

Lechartier et Bellamy. — *Comptes rendus*, t. LXIX, p. 366 et 466, 1869; t. LXXV, p. 1203, 1872, et t. LXXIX, p. 949 et 1066, 1874.

Pasteur. — Faits nouveaux pour servir à la connaissance de la théorie des fermentations proprement dites. *Comptes rendus*, t. LXXV, p. 754.

Fremy. — *Comptes rendus*, même volume, p. 979.

Pasteur. — Note sur la production de l'alcool par les fruits, même volume, p. 1054.

Muntz. — Sur les fonctions des champignons, *Comptes rendus*, t. LXXVI, p. 649, t. LXXIX, p. 1182, t. LXXX, p. 178, et *Ann. de ch. et de phys.*, 1875.

— Sur la fermentation alcoolique intracellulaire des végétaux. *Comptes rendus*, t. LXXXVI, p. 49, et *Ann. de ch. et de Phys.*, 1878.

A. Béchamp. — Sur la fermentation alcoolique et acétique spontanée du foie, et sur l'alcool physiologique de l'urine humaine. *Comptes rendus*, t. LXXV, p. 1830.

— Sur l'alcool et l'acide acétique normaux du lait comme produits de la fonction des microzymas. *Comptes rendus*, t. LXXVI, p. 836.

J. Béchamp. — Sur la présence de l'alcool dans les tissus animaux pendant la vie et après la mort, dans les cas de putréfaction, au point de vue physiologique et toxicologique. *Comptes rendus*, t. LXXXIX, p. 573.

A. Muntz. — Sur la présence de l'alcool dans le sol, dans les eaux, dans l'atmosphère. *Comptes rendus*, t. XCII, p. 499.

CHAPITRE XXII

ORIGINE DES LEVURES

Les renseignements d'ordre général que nous avons donnés dans les deux chapitres précédents nous permettent d'aborder utilement l'étude de la fermentation alcoolique, sur laquelle nous insisterons longuement, parce qu'elle est la plus connue. La première question que nous nous poserons à son sujet est celle de l'origine des levures qui la produisent.

Conditions de l'apparition des levures. — Nous avons vu, dans le courant de ce livre, lorsque nous avons étudié les conditions chimiques favorables ou nuisibles au développement des infiniment petits, que les deux liqueurs sucrées qui fournissent les boissons alcooliques les plus usitées dans nos climats, à savoir le moût de bière et le moût de raisin, présentent, au point de vue de leur ensemencement spontané par les levures, de très grandes différences.

Le moût de bière, neutre ou légèrement acide, nourrirait de préférence, s'il était abandonné à lui-même, les ferments lactique et butyrique, et les vibrions de la putréfaction. Aussi, quand on veut le transformer en bière, faut-il l'ensemencer, et avec d'assez fortes doses de levure, que le brasseur emprunte au résidu d'une opération antérieure. Toutes les fermentations d'une brasserie bien conduite sont filles les unes des autres, et cela depuis un temps immémorial; de sorte que les cellules que les brasseurs utilisent aujourd'hui viennent en descendance directe des premières brasseries établies dans le monde, c'est-à-dire qu'elles remontent au moins aux périodes les plus anciennes de l'histoire des Egyptiens. Leur origine première est donc perdue dans la nuit de ces temps reculés.

Il en est autrement pour le moût du raisin. Personne ne se préoccupe et ne s'est jamais préoccupé d'ensemencer la vendange pour y amener la fermentation alcoolique. Sitôt les raisins écrasés, ou même sans qu'ils le soient, on voit apparaître, sans intervention aucune, tous les signes d'une action régulière, qui ne dévie que dans des circonstances tout à fait exceptionnelles.

Cette apparition spontanée d'un phénomène aussi remarquable a dû frapper

depuis longtemps l'attention, et nous avons vu, dans l'introduction de ce livre, la place qu'il a tenue, avec le phénomène corrélatif de la fermentation panaire, dans les préoccupations des alchimistes et plus tard des savants.

Il devait paraître plus surprenant que la fermentation de la bière dont la cause prochaine, l'action de la levure, était toute trouvée. Mais quelle pouvait être sa cause première à lui? Thénard, en 1802, jeta le premier quelque lumière sur la question, en montrant que tous les jus sucrés, mis en fermentation spontanée, donnaient un dépôt ayant l'aspect et les propriétés de la levure de bière. La cause prochaine semblait donc la même partout, et malgré ce qu'il y avait alors d'inconnu dans l'action de la levure, l'importance de son rôle apparaissait comme de plus en plus grande.

Cette importance s'accrut encore à la suite d'une expérience, demeurée célèbre, de Gay-Lussac. Ce savant fit passer sous une cloche pleine de mercure quelques grappillons de raisin bien sains, puis, afin d'éliminer tout l'air qui aurait pu s'introduire avec eux, ou rester adhérent aux parois de la cloche, il y fit passer, à plusieurs reprises, du gaz hydrogène. Il écrasa alors les raisins avec une tige de fer recourbée, et abandonna l'expérience à elle-même pendant plusieurs semaines, pendant lesquelles tout resta inerte. Quand il fut bien manifeste qu'aucune fermentation n'avait lieu, il fit arriver quelques bulles de gaz oxygène, et une fois sur deux expériences, il vit se déclarer au bout de peu de ours, après introduction de ce gaz, une fermentation vive et régulière. Gay-Lussac tira de là la conclusion « que la fermentation du moût de raisin ne peut commencer sans le secours du gaz oxygène ».

Nous reviendrons sur cette expérience, mais il convient de faire remarquer de suite qu'elle ne réussit pas toujours. Nous venons de voir qu'elle avait échoué une fois sur deux entre les mains de Gay-Lussac, et peut-être ce judicieux observateur eût-il donné plus d'attention à cette circonstance, si l'on n'avait pas été alors aussi ébloui des découvertes de Lavoisier, et en particulier du rôle brillant qu'il avait fait jouer à l'oxygène. Mais le lien de parenté du fait nouveau observé par Gay-Lussac avec le procédé de conservation d'Appert, l'appui qu'il recevait de la pratique déjà ancienne du soufrage des tonneaux, de la pratique plus récente, mais très répandue alors, du mûtage du moût de raisin, pour remplacer le sucre des colonies, tout devait le faire entrer sans difficulté dans les esprits, et il a exercé jusque sur la science de nos jours une influence incontestable.

Pourtant son interprétation devint plus difficile lorsque, en 1835, Cagniard-Latour eut essayé de montrer le rôle vital de la levure dans les phénomènes de fermentation. Comment cette levure qui, dans la fabrication de la bière, semblait n'avoir jamais besoin du contact de l'air, pouvait-elle le réclamer absolument dans la fabrication du vin? Cette contradiction fournissait aux adversaires de Cagniard-Latour, pour réfuter sa manière de voir, un argument auquel, jusqu'à M. Pasteur, on a été fort embarrassé d'y répondre.

Là n'était pas d'ailleurs la principale difficulté. Elle résidait surtout dans la rapidité avec laquelle se déclarait et marchait la fermentation dans le jus du raisin, rapidité qui est quelquefois telle, que trois jours suffisent à la transformation en vin. D'où peuvent provenir, si la levure est seule active, les quantités consi-

dérables de cette substance mises nécessairement en jeu dans la fermentation de quelques hectolitres de vendange?

Origine de la levure du vin. — La théorie de la fermentation proposée par Liebig échappait à cette difficulté en niant le rôle de la levure. Quand il a fallu accepter la réalité et l'importance de ce rôle, à la suite des travaux de M. Pasteur, l'objection a changé de forme sans changer de nature, et pour la faire disparaître sans se rendre aux conclusions de M. Pasteur, M. Frémy a admis « que dans la production du vin, c'est le suc même du fruit qui, au contact de l'air, donne naissance aux grains de levure par la transformation de la matière albuminoïde, tandis que M. Pasteur soutient que les grains de levure sont produits par des germes. »

Cette explication témoigne du désir de concilier l'expérience de Gay-Lussac avec la production indéniable de grandes quantités de levure pendant la fermentation du moût de raisin. Mais nous avons à nous demander si elle es exacte. Rien ne prouve, *a priori*, qu'elle ne le soit pas. Le fait de la production de cellules de levure aux dépens des cellules du raisin n'est pas un fait de génération spontanée, à proprement parler, et n'cst pas justiciable des arguments que nous avons proposés contre cette doctrine. Il est bien plus en désaccord avec ce que nous avons dit, dans divers chapitres de ce livre, sur l'autonomie des divers ferments; mais bien que nous ayons constaté cette autonomie partout où nous l'avons cherchée, nous n'avons pas encore le droit de poser à ce sujet de règle générale.

Voici l'expérience faite par M. Pasteur pour juger de la valeur de cette explication. On prend quarante ballons à deux tubulures, comme celui de la fig. 36, remplis à moitié environ de moût de raisin filtré à clair, et stérilisé par une ébullition dans le ballon. On peut, au lieu de ces ballons, se servir de matras Pasteur, dont le maniement est plus facile.

Cela fait, on lave dans quelques centimètres cubes d'eau stérilisée, à l'aide d'un pinceau de blaireau très propre, un fragment d'une grappe de raisin, les grains seuls, ou le bois seul, ou le bois et les grains simultanément. L'eau de lavage se trouble fortement, et on constate au microscope qu'elle tient en suspension une multitude de corpuscules organisés, ressemblant à des levures ou à des spores de moisissure, et d'autres globules sur lesquels nous reviendrons. Dix des quarante ballons sont conservés comme témoins. Dans dix autres on introduit, par la tubulure droite, quelques gouttes de l'eau de lavage des grappes et des grains. Dans une autre série de dix ballons ou matras, on dépose aussi quelques gouttes de ce même liquide, mais après l'avoir porté à l'ébullition. Enfin les dix ballons restants sont destinés à recevoir une goutte de jus de raisin prise dans l'intérieur même des grains entiers.

A cet effet, on a eu soin de recourber, en l'effilant en pointe fine qu'on ferme à la lampe, l'extrémité de la tubulure droite des dix flacons de cette série, comme le représente la fig. 50. On fait sur cette pointe effilée un trait de lime tout près de l'extrémité, et on l'enfonce, comme le représente la fig. 51, dans un grain de raisin reposant sur un verre de montre. Lorsqu'on sent que la pointe de l'effilure touche le verre, on appuie un peu, en *porte-à-faux*. La

pointe se brise, et si l'on a eu la précaution de raréfier un peu l'air du ballon en le chauffant avec les mains, et en fermant alors la tubulure effilée d'un trait de

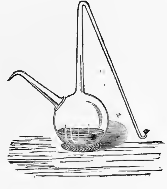


Fig. 50.

flamme, une petite goutte du jus de raisin, appelée par la différence de pression, pénètre dans l'effilure, entraînant avec elle les cellules brisées ou intactes qui y sont nécessairement en suspension.

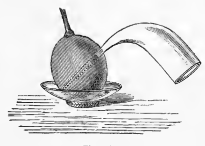


Fig. 51.

On retire alors la pointe effilée et on la ferme aussitôt à la lampe à gaz. La goutte est restée tout près de l'effilure. On va la chercher en amenant, par une inclinaison convenable du ballon, le moût jusqu'au contact de cette goutte; on la ramène ensuite dans la panse, puis on met le ballon à l'étuve.

Si l'on opère avec des matras Pasteur, l'opération peut se faire avec un peu moins de rigueur, il est vrai, mais plus simplement. On peut aller puiser le jus dans le raisin avec un petit tube de verre effilé, portant un tampon de coton à son extrémité élargie, et terminé par un tube capillaire un peu allongé, un peu recourbé en crosse (fig. 52).

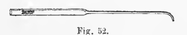


Fig. 52.

On introduit la pointe flambée, après l'avoir marquée d'un trait de lime, dans un raisin sain, et quand elle s'est fait une ouverture très fine dans la peau, on

imprime au tube un mouvement de rotation, qui promène la crosse de l'extrémité dans la pulpe, et produit un déchirement de cellules assez grand pour que, lorsqu'on brise l'extrémité effilée, on puisse aspirer quelques gouttes de liquide qu'on porte de suite dans un matras Pasteur, avec les précautions que nous avons dites plus haut.

Quel que soit le procédé employé, voici quels sont les résultats de ces quatre séries d'expériences comparatives :

Les dix premiers ballons, ballons témoins, restent, cela va sans dire, absolument inaltérés.

Ceux qui renferment les eaux de lavage des grains ou de la grappe donnent lieu, sans exception, à une fermentation alcoolique qui dans tous se déclare au bout de quarante-huit heures, quand on opère aux températures de l'été. La levure y forme des traînées sur les parois, et on voit souvent aussi apparaître des mycéliums de diverses plantes cryptogamiques et du *mycoderma vini*.

Les ballons qui renferment des eaux de lavage, ensemencées après avoir été bouillies, restent tout aussi inaltérés que les ballons témoins.

Enfin les ballons qui ont reçu une goutte du jus intérieur des grains de raisin restent également intacts, ou du moins, il y en a toujours, restant ainsi, un nombre d'autant plus grand que l'opération a été mieux faite. On ne peut pas, en effet, espérer d'éviter à tout coup les causes d'erreur inhérentes à cette expérience. Il suffit, puisque les poussières extérieures du grain sont fécondantes, qu'il y ait eu un germe vivant sur ou au voisinage de l'ouverture faite par l'effilure du tube, pour que ce germe ait été entraîné à l'intérieur du grain, et ait pu pénétrer dans le ballon, emporté par le jus. Mais il est clair que si l'hypothèse de M. Frémy est vraie, tous les ballons doivent fermenter, et il suffit qu'il y en ait un qui reste intact pour qu'on ait le droit de la considérer comme inexacte.

Concluons donc que la levure qui fait fermenter le raisin dans une cuve de vendange provient de l'extérieur et non de l'intérieur des grains. Le succès constant de l'ensemencement des eaux de lavage du bois et du grain, dans les expériences précédentes, témoigne que chaque grappe, sinon chaque grain apporte des germes. D'un autre côté, nous en savons assez sur leur vitesse de prolifération, quand ils sont dans un liquide et à une température convenables, pour ne pas nous étonner qu'on récolte beaucoup de levure sans avoir, en apparence, rien ensemencé dans le liquide. Nous voyons donc disparaître un des arguments de l'objection que nous signalions tout à l'heure. Il ne nous reste plus à expliquer que la valeur et la signification véritable de l'expérience de Gay-Lussac.

Nature des poussières de la surface de la grappe. — Continuons pour cela à marcher dans la voie que nous a ouverte notre première série d'expériences. Quelle est la nature de ces poussières, recueillies à la surface du grain, et capables d'exciter la fermentation dans le liquide sucré où on les porte? Ici le sujet est tellement nouveau, et tellement important, que nous devons laisser la parole à l'auteur de ces découvertes, parce qu'il *a vu* ce qu'il décrit, p. 150 de son livre sur la bière.

« Le 27 septembre 1872, dit M. Pasteur, je vais cueillir, dans une vigne aux environs d'Arbois, une grappe de raisin du plant appelé le *noirin*. La grappe choisie, sans qu'un seul des grains fût avarié, est apportée au laboratoire dans une feuille de papier qu'on venait de flamber dans la flamme de la lampe à alcool, et les grains sont détachés avec de fins ciseaux également passés dans la flamme. A l'aide d'un pinceau de blaireau, ne cédant plus rien à l'eau où on l'agite, chaque grain, portant encore une portion de son pédoncule, est lavé dans un peu d'eau pure. Le lavage successif de douze grains dans 3 centimètres cubes d'eau suffit pour troubler assez fortement cette eau, qui est alors examinée au microscope. Chaque champ montre plusieurs petits corps organisés, associés accidentellement à quelques rares aiguilles cristallines. Ce sont, en général, des cellules simples, translucides, incolores, et d'autres plus grosses, colorées en jaune brun, libres ou réunies en amas irréguliers, et enfin des utricules pleines de spores prêtes à germer, quelques-unes en forme de gourdes. J'ai répété la même observation sur des grappes d'autres plants et aussi sur l'eau de lavage de la surface extérieure des groseilles, des prunes, des poires...; le résultat a été le même, c'est-à-dire que j'ai revu en très grand

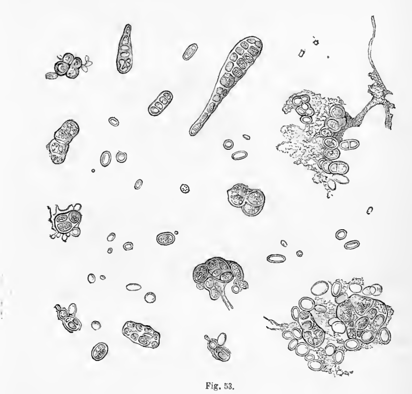


Fig. 53.

nombre les mêmes cellules, les mêmes amas irréguliers de cellules brunes, qu'il ne faut pas confondre toutefois avec les amas de cellules mortes qui recouvrent çà et là l'épiderme de certains fruits.

« Comme j'avais laissé, à dessein, chaque grain uni à une partie de son pédoncule, j'ai voulu savoir si les corpuscules dont je parle provenaient des grains ou du bois du pédoncule. A cet effet, j'ai lavé isolément la surface du bois de la grappe. L'eau de lavage de ce dernier était visiblement plus chargée de petits corps organisés; pourtant l'eau de lavage de la surface des grains n'en était pas exempte. »

La fig. 53 représente, au grossissement de 500 diamètres, ces corpuscules de la surface des fruits. On y voit des groupes volumineux formés de cellules à double contour, de couleur brune plus ou moins foncée ou jaune rougeâtre, et d'autres cellules plus petites et translucides. Parmi celles-ci, il y a des spores de moisissures vulgaires et beaucoup de cellules, issues vraisemblablement, par un commencement de germination, des groupes d'aspect dur, jaunâtre, à double enveloppe, sous l'influence de l'humidité du bois de la grappe ou des pluies les plus récentes au moment de l'observation.

« Il est facile de suivre au microscope la germination de ces diverses sortes de cellules. On dépose une goutte d'eau de lavage du bois de la grappe d'un raisin, dans un petit volume de moût de raisin filtré à clair et qui a été porté préalablement à l'ébullition. La fig. 54 offre une série de développements observés sur les deux cellules simples ou groupées A et D. Voici comment les choses se passent: Les cellules jaune brun se ramollissent, se distendent dans le milieu

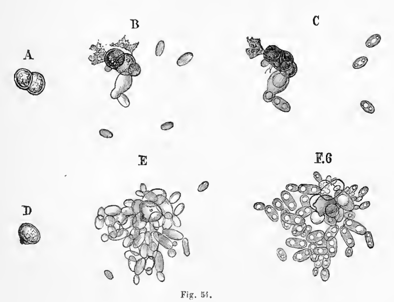


Fig. 54.

nutritif, et deviennent peu à peu presque translucides et incolores, en même temps qu'on voit apparaître sur leur pourtour des bourgeons très jeunes qui grossissent vite, et se détachent sous forme de jeunes cellules qui font place à d'autres, tandis que les précédentes vont bourgeonner à leur tour. La rapidité du bourgeonnement et de la prolifération de ces cellules est souvent extraordinaire. Le groupe A et la cellule D ont donné les groupes C et F en vingt-quatre

heures, en passant par les groupes intermédiaires B, E. Ces cellules A et D n'ont pas donné de tubes allongés, du moins pendant le temps des observations, mais il y a d'autres groupes de cellules qui poussent tout de suite des tubes longs, cloisonnés à la manière des tubes de mycélium des moisissures ordinaires, en même temps que des cellules à profusion, lesquelles cellules se montrent également sur toute la longueur des tubes et souvent par bouquets. Hors du contact de l'air, toute vie est absente.

« Mais quelle est donc la preuve que, parmi les développements de cellules et de tubes, sortant des petits corps bruns des poussières de la surface des fruits, et que nous voyons ici bourgeonner et proliférer avec une si grande rapidité, il existe réellement de la levure ou des levures de la vendange? Une expérience fort simple va nous en convaincre. Lorsque le rajeunissement et le développement des cellules ont eu lieu en vingt-quatre ou quarante-huit heures dans le moût sucré, avec présence de beaucoup d'air, sur le fond d'un des petits vases qui servent aux observations, si l'on vient à remplir celui-ci complètement de ce même moût, de façon qu'il n'y ait plus d'air libre sous la lame qui ferme la cuve, bientôt après, une demi-heure, une heure au plus, souvent même en moins de temps, on voit s'élever du fond du petit vase des bulles de gaz, et le dépôt des cellules augmente. C'est le moût qui fermente après la submersion des plantes cellulaires. En conséquence, les cellules ou groupes de cellules brunes qui recouvrent les fruits ou le bois des grappes sont de véritables germes de cellules de levure : plus exactement, c'est parmi ces groupes qu'existent les germes de cellules de levure, car il serait contraire à la vérité de dire que les formes variées de la germination des poussières de la surface des grains de raisin correspondent toutes à des développements de véritables levures. Ainsi les spores utriculaires cloisonnées de la fig. 55 sont des organes reproducteurs d'*alternaria tenuis*, qui n'ont vraisemblablement que des ressemblances de formes avec la levure ou les levures alcooliques proprement dites. Mais, je le répète, et c'est là qu'il importe de bien noter quant à présent, les cellules de evure naissent de tels ou tels des petits corps brunâtres organisés, que le microscope découvre en si grande abondance parmi les poussières de la surface des fruits. »

Nous avons maintenant l'explication de l'expérience de Gay-Lussac. Ces cellules-mères de la levure ont besoin d'air et d'un moût sucré pour se rajeunir et proliférer. Elles ont dû rester inertes lorsque Gay-Lussac a écrasé ses raisins au préalable lavés avec de l'hydrogène. Elles ont germé et donné de la levure lorsque de l'oxygène est arrivé au contact du liquide sucré. Remarquons qu'il est important, pour que l'expérience réussisse, de laver avec de l'hydrogène, et à plusieurs reprises, la surface des grains pendant qu'ils sont encore entiers. Il ne faut pas que le jus intérieur du raisin vienne au contact de l'air, qu'il dissoudrait, et dont le déplacement par l'hydrogène deviendrait dès lors plus difficile. La surface cireuse du grain doit, en outre, se présenter à l'hydrogène directement, et non pas plongée dans un liquide où elle entraîne, par suite de phénomènes de capillarité, de l'air adhérent, dont l'expulsion serait ensuite presque impossible dans les conditions de l'expérience de Gay-Lussac. C'est cet air adhérent aux pellicules, c'est cet air dissous dans les portions de jus

venant à l'air, qui permettent la fermentation de la vendange, car au moment de la récolte, on peut admettre que le raisin, une fois cueilli, est désormais presque totalement soustrait au contact de l'air extérieur.

Apparition et disparition des levures du vin. — Envisageons maintenant sous une autre face les résultats curieux auxquels nous venons d'arriver. Ils nous prouvent que la levure qui fait fermenter la récolte une certaine année ne provient pas de celle qui était entrée en action l'année précédente, ou du moins, si elle en provient, ce n'est qu'au moyen du passage par une autre forme, comme le serait, par exemple, en choisissant dans ce que nous savons déjà, de la levure de mucor se perpétuant par le passage sous forme de mucédinée et ne possédant pas alors le pouvoir ferment. Ceci nous invite à une autre recherche. Que se passe-t-il dans l'intervalle de deux récoltes? Il n'y a guère à espérer que la levure, dont la condition d'existence est le contact d'un liquide sucré, puisse traverser l'hiver sous forme de levure. Il y en a pourtant toujours de nouvelle, prête à agir à la récolte suivante. A quel moment disparaît-elle, quelle forme prend-elle et quand reparaît-elle?

Essayons d'abord de répondre à la première et à la dernière question, qui sont évidemment les plus faciles à résoudre. M. Pasteur a employé pour cela un dispositif simple, qu'il s'était ingénié à rendre pratique pour des opérations en pleine campagne, tout en le laissant assez rigoureux pour l'objet qu'il avait en vue.

Dans des tubes à essai (fig. 55), un peu larges, et fermés à une extrémité, il

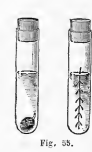


Fig. 55.

introduit quelques centimètres cubes de moût de raisin conservé, qu'il porte à l'ébullition de façon à le purger de tout germe vivant. Il passe ensuite la flamme de la lampe à alcool sur les parois de la partie supérieure du tube, pour tuer les germes qui pourraient s'y trouver. Cette opération laisse le tube à peu près plein d'air. On le ferme avec un bouchon neuf et sain, flambé jusqu'à commencement de carbonisation.

Muni d'une série de tubes ainsi préparés, on se transporte à la vigne et on fait tomber dans le moût soit des grains de raisin, soit des grappes dont on a enlevé les grains en les coupant avec leurs pédoncules, soit des fragments de feuilles, soit du bois des rameaux. Les bouchons, flambés de nouveau, sont immédiatement replacés sur chaque tube. On peut laisser les grains entiers ou les écraser au fond des tubes avec une tige de fer flambée, ou bien encore les

taillader avec des ciseaux flambés, au moment de les introduire dans le tube, de façon à mêler au moût un peu de leur jus.

Voici le résumé des faits observés dans cette série d'expériences :

Époque de l'expérience.	Contenu des tubes.	Nombre des tubes.	Nombre des tubes ayant fermenté.
28 septembre.	1 grain non écrasé.	4	4
	2 grains non écrasés.	1	1
	2 grains écrasés.	2	0
	Bois de grappe.	1	1
	Bois de branche.	1	0
	Fragment de feuille.	3	0
2 octobre.	1 grain non écrasé.	6	1
	2 grains écrasés.	1	0
	1 grain écrasé.	1	0
	Bois de branche.	4	0
	Bois de grappe.	12	7
21 décembre.	Bois de grappe.	12	4
21 janvier.	Bois de grappe.	12	2
2 mars.	Bois de grappe.	12	2
Avril, mai.	Bois de grappe.	12	0

Ce tableau est intéressant à divers points de vue.

Les essais du 28 septembre montrent d'abord que, même à l'époque de la grande maturité du raisin, tous les grains sont loin de porter individuellement des germes de levure, et qu'on peut écraser quelquefois deux grains ensemble sans voir s'y produire de fermentation.

Les essais du 2 octobre confirment ce fait, et ajoutent une notion intéressante, c'est que ce sont les bois de grappes qui paraissent surtout chargés de germes de levure. Sept tubes, sur les douze qui en renfermaient, ont fermenté. Ce sont ces bois de grappes, si féconds en octobre, qui ont été enfermés dans du papier passé dans la flamme, et ont servi aux essais ultérieurs.

Les dernières lignes du tableau montrent que leur stérilité augmente de plus en plus, et qu'en avril, elle était devenue absolue. On multiplia, en avril et mai, ces mêmes expériences sur des bois de grappes de raisins nouveaux et de raisins blancs conservés, de la dernière récolte, qu'on trouvait encore abondamment et frais chez les marchands de comestibles. On opéra également sur des bois prélevés dans une vigne de Meudon. La fermentation ne se déclara pas du tout dans un grand nombre des essais, et même il arriva qu'une grappe entière d'un raisin noir nouveau, très mûr, acheté chez Chevet, le 16 avril, et qui avait poussé en serre, ne fermenta pas du tout après avoir été écrasée.

Tant que les raisins sont verts, à la fin de juillet et même pendant la première quinzaine d'août, le ensemencements se montrent tout aussi stériles. Du 20 au 25 août, quelques rares tubes donnent une fermentation. Leur nombre augmente progressivement dans le courant de septembre, et atteint son maximum au moment de la maturité, sans pourtant jamais embrasser la totalité des tubes mis en œuvre, comme nous l'avons vu plus haut.

Ceci répond complètement, comme on voit, à la double question que nous

nous sommes posée. La levure est mûre, s'il est permis d'employer cette expression, au moment où les raisins sont mûrs, sans qu'il y ait entre ces deux faits, remarquons-le, une relation naturelle et, par suite, nécessaire, puisque nous avons vu plus haut qu'une grappe de raisin mûrie en serre, hors de saison, avait pu être écrasée en totalité sans entrer en fermentation.

Ceci va nous permettre d'esquisser la solution de celle de nos trois questions que nous avons laissée sans réponse. Sous quelle forme la levure passe-t-elle d'une année à l'autre?

Tous les faits qui précèdent s'accordent à indiquer, d'abord, que ce n'est pas sous forme de levure ordinaire, c'est ce que prouvent nos observations sur les germes qui recouvrent la surface des grains à maturité : puis, que ces germes de levure n'ont pas pour habitat ordinaire le bois de la vigne, qui, du reste, dans certaines régions, est tellement mutilé qu'il est réduit pendant l'hiver à un moignon, sans que la fermentation en devienne plus difficile ou plus lente à se déclarer. D'un autre côté, ce que nous savons sur les mucors nous prouve que la levure peut être un organe détaché d'un végétal plus complexe, d'une moisissure ayant par elle-même une vie indépendante. Tout cet ensemble de faits nous autorise à chercher l'origine de la levure en dehors de la vigne ou de ses produits, et à admettre, chose pourtant fort singulière, que cette loi, tant de milliers de fois vérifiée, qui fait que le raisin mûr trouve toujours autour de lui de la levure pour le faire fermenter, résulte d'une simple coïncidence qui n'a rien de nécessaire et qui pourrait fort bien ne pas exister, comme le prouve l'expérience du raisin poussé en serre que nous avons citée plus haut.

Raisins sans germes extérieurs. — Ce serait tellement singulier, qu'avant d'aller plus loin, nous devons vérifier une conséquence de notre hypothèse. Si les germes de levure viennent de l'extérieur, et ne se développent sur le bois et sur la grappe de la vigne qu'au moment de la maturité, on doit pouvoir répéter l'expérience de la grappe poussée en serre, mais dans des conditions beaucoup plus probantes, sur des grappes poussées à leur saison et en pleine terre, à la condition d'empêcher les germes de la levure d'arriver jusqu'à elles.

« Il doit être facile, disait en 1876 M. Pasteur, avec cette sûreté de prédiction dont il a donné tant de preuves, de cultiver un ou plusieurs ceps de vigne de façon que les raisins *récoltés même à l'automne*, qui auraient poussé sur ces ceps, fussent incapables de fermenter spontanément après qu'on les aurait écrasés pour en faire écouler le jus. Il suffirait de soustraire les grappes aux poussières extérieures pendant la durée de la végétation des grappes et de la maturation des grains, et de pratiquer l'écrasement dans des vases bien purgés de germes alcooliques. Tous les fruits, tous les végétaux, se prêteraient à ce genre d'importantes recherches, dont les résultats, selon moi, ne sauraient être douteux. »

En 1878, M. Pasteur s'est trouvé conduit à faire lui-même ces expériences. Au commencement d'août, après avoir constaté que les raisins des vignes des environs d'Arbois, encore à l'état de verjus, ne portaient pas trace de germes de levure, il fit recouvrir quelques ceps d'une petite serre vitrée. Dans la

crainte que la fermeture insuffisante de cette serre n'amenât des germes sur les grappes, il eut la précaution, tout en laissant quelques grappes libres, d'en emmaillotter d'autres dans du coton porté au préalable à une température de 130° environ.

Dans ces serres, les raisins, sauf quelques irrégularités dans la maturation, se comportèrent comme à l'air libre, et au 10 octobre, ils étaient comparables à ceux des vignes environnantes.

Ce jour-là, on essaya, sur eux et sur des raisins de grappes mûries en plein air, l'expérience de l'ensemencement des grains et des bois de grappes dans du moût stérilisé, comme nous l'avons vu plus haut. Il fut impossible d'obtenir une fermentation alcoolique avec les grains sortant du coton, ou les grains des grappes libres sous les serres, tandis que les tubes ensemencés avec les grains mûris en plein air fermentaient par les levures de raisin après 36 ou 48 heures de séjour à l'étuve. Répétée bien des fois depuis, l'expérience a toujours conduit au même résultat.

En présence de ces faits, on se trouvait naturellement conduit à l'idée d'une expérience comparative. Au moment de la vendange, il n'y avait pas de germes de levure sous les serres; il y en avait abondamment dehors, que les vents, la pluie, devaient éparpiller partout. Il était donc présumable qu'en prenant dans les serres des grappes recouvertes de coton, pour les exposer, leur coton enlevé, quelques jours en plein air, suspendues à des branches de ceps, ces grappes, qui tout à l'heure se montraient stériles, se comporteraient comme celles restées en plein air. Tel fut, en effet, le résultat obtenu.

Tous ces faits confirment des notions que nous possédions déjà, et nous aurions pu à la rigueur les passer sous silence si, en suivant la voie dans laquelle nous sommes entrés, nous ne devions pas rencontrer des faits nouveaux. Nous venons de voir qu'il y a, au moment de la vendange, dissémination des germes des corps qui en portent sur ceux qui en sont exempts. Il est vraisemblable qu'il doit en exister dans la terre de la vigne, où la pluie a dû certainement les amener. L'expérience confirme encore cette prévision. En déposant de très petites parcelles de terre d'une vigne dans des tubes à moût stérilisé, M. Pasteur a vu très souvent apparaître la fermentation alcoolique. Sans nuire au succès de l'expérience, on pouvait prélever les parcelles de terre assez profondément dans le sol, à 10 et 15 centimètres. Mais si les germes des levures de vin apparaissent fréquemment dans ces conditions, comme nous venons de le dire, plus fréquentes encore sont les levures du genre mucor, que nous connaissons déjà, tant sont abondantes dans la terre cultivée les spores de ces petites plantes.

Avec la terre prise sous les serres, les levures de mucor sont encore présentes. Mais cette fois, les levures alcooliques véritables, les levures de vin, ont complètement disparu.

« Que de réflexions font naître ces résultats, dit M. Pasteur, et peut-on se défendre de faire observer que plus on pénètre dans l'étude expérimentale des germes, plus on y entrevoit de clartés imprévues et d'idées justes sur la connaissance des causes des maladies par contage! N'est-il pas très digne d'attention que dans ce vignoble d'Arbois, et cela serait vrai des millions d'hectares des

vignobles de tous les pays du monde, il n'y ait pas eu, à l'époque où j'ai fait les expériences dont je viens de rendre compte, une seule parcelle de terre, pour ainsi dire, qui ne fût capable de provoquer la fermentation par une levure du raisin, et que par contre, la terre des serres dont j'ai parlé ait été impuissante à remplir cet office? Et pourquoi? Parce quc, à un moment donné, j'ai recouvert cette terre par quelques vitres. La mort, si j'ose ainsi parler, d'un grain de raisin qui eût été jeté alors sur un vignoble quelconque, aurait pu arriver infailliblement par les parasites du genre *saccharomyces* dont je parle : ce genre de mort eût été impossible, au contraire, sur les coins de terre quc mes serres recouvraient. Ces quelques mètres cubes d'air, ces quelques mètres carrés de surface du sol étaient là au milieu d'une contagion universelle possible, et ils ne la craignaient pas depuis plusieurs mois.

« Mais, quant à la maladie et à la mort des grains par les parasites des *mucor*, à quoi eût servi l'abri des serres? A rien. Les parasites des *saccharomyces* venant de l'extérieur à une époque déterminée de l'année, un abri mis à temps avait pu les éloigner, comme on préserve l'Europe du choléra, de la peste, etc , par des quarantaines. Les parasites *mucor* existant au contraire, en permanence, pendant toute l'année dans la terre de nos champs et de nos vignes, ils se trouvaient naturellement sous les serres au moment de l'établissement de celles-ci, pareils, à certains égards, aux germes de nos maladies contagieuses communes, contre lesquelles ne sauraient évidemment agir les quarantaines qu'on oppose au choléra, à la fièvre jaune et à la peste. »

BIBLIOGRAPHIE

Pasteur. — *Études sur la bière.* Paris, 1876.

— *Examen d'un écrit de Cl. Bernard sur la fermentation.* Paris, 1879.

Fremy. — Sur la génération intracellulaire du ferment alcoolique. *Comptes rendus*, t. LXXXIII, p. 180.

Joubert et Chamberland. — Sur la fermentation des fruits plongés dans l'acide carbonique. *Comptes rendus*, t. LXXXIII, p. 354.

CHAPITRE XXIII

POLYMORPHISME DES LEVURES

Les faits consignés au chapitre précédent nous ont conduit à rechercher en dehors de la vigne et du raisin la source des levures qui viennent tous les ans et avec régularité faire fermenter la vendange. Nous avons vu, en outre, que ces cellules-mères de la levure qui, au voisinage de la récolte du raisin, viennent s'implanter sur les grains et le bois de la grappe, n'y restent pas longtemps à l'état vivant, comme si elles étaient en mauvais terrain, et ne peuvent jamais attendre la campagne suivante.

Tous ces faits sont d'accord avec l'idée d'une alternance dans l'habitat et les conditions d'existence du végétal dont la levure provient, alternance dont la science possède déjà de nombreux exemples. Le plus ancien est peut-être celui qui relie le végétal produisant la rouille du blé à un parasite de l'épine-vinette, et qui a été découvert par Yvart en 1807. Depuis lors, la science en a enregistré d'autres dans lesquels on voit presque toujours une alternance de formes s'accompagner d'une alternance dans l'habitat. Les résultats indiqués déjà à propos des mucors indique que de pareils faits ne sont pas rares dans le monde des infiniment petits.

Pourtant, avant de nous lancer dans la voie ouverte par toutes ces notions, et de rechercher quel est le végétal ayant pour forme polymorphe la levure du raisin, il est urgent de montrer l'inexactitude d'une autre interprétation à laquelle, à la rigueur, on pourrait avoir recours pour expliquer les faits du chapitre précédent. On pourrait dire que c'est l'air qui charrie les germes de levure, qui les apporte à l'automne sur les bois du cep, où ils se développent, qui les enlève ensuite, et les promène ainsi dans l'espace et dans le temps, en leur laissant toujours leur forme et leurs propriétés.

On peut expliquer, avec cette hypothèse, le succès de toutes les expériences que nous avons faites ci-dessus, sauf la production de cellules-levures aux dépens des grosses cellules brunes de la surface des fruits, dans l'observation capitale que nous avons citée tout au long, page 278. Mais les deux phénomènes pourraient exister à la fois, ces cellules brunes donner des levures, et d'autres levures, les levures propres du raisin, se transporter en nature, d'une année à

l'autre, au moyen de l'air, véhicule naturel de tous les germes à la surface du globe.

Il est donc important de montrer que les levures qui ont fait fermenter une vendange, lors même qu'elles seraient mises de suite en suspension dans l'air, ce qui ne leur arrive pas d'ordinaire, sont souvent incapables de vivre assez pour faire fermenter la vendange suivante.

Durée de la vie d'un globule de levure. — M. Pasteur a fait pour cela l'expérience suivante. Au milieu de décembre, on prend, dans la partie centrale d'un gâteau de levure de bière, quelques grammes de substance, qu'on mélange avec cinq fois leur poids de plâtre dans un mortier de porcelaine. Le mortier et le plâtre venaient d'être chauffés à 200°, et refroidis rapidement; on a renfermé la poudre ainsi obtenue dans un cornet dont le papier, pris au centre d'un cahier, venait d'être flambé dans la flamme d'une lampe à alcool. Le cornet et son contenu ont ensuité été mis à l'étuve, de 20 à 25°. Toutes ces précautions avaient pour objet d'éliminer les germes des corps solides avec lesquels la poudre venait en contact, germes que nous savons plus nombreux d'ordinaire que ceux qui existent dans l'air.

Trois jours après, on prélève, avec une petite spatule de platine qu'on vient de passer dans la flamme, une pincée de la poudre de plâtre et de levure, et on la dépose comme semence dans un ballon à deux cols, contenant du moût de bière pur. Trois jours après l'ensemencement, on voit la fermentation s'accuser par l'apparition de quelques îlots de mousse à la surface.

Dans les premiers jours de mars, nouvel essai conduit de la même façon. La fermentation s'accuse au bout de quatre jours.

A la fin de juillet, c'est-à-dire après sept mois et demi, nouvelle épreuve. La fermentation ne se traduit par des signes visibles que huit jours après. Le temps que met la levure à se rajeunir et à fructifier devient donc de plus en plus long. Cependant elle n'est pas encore morte.

Au commencement de novembre, c'est-à-dire après dix mois et demi, un nouvel ensemencement de levure n'a donné aucun résultat. La levure était morte. Elle est donc incapable de passer l'année, lorsqu'elle est enlevée à son milieu nutritif et exposée à l'air. Si on la retrouve tous les ans, prête à agir de nouveau, c'est qu'elle subit quelque part une culture intermédiaire. Tâchons de découvrir où, et sous quelle forme.

Étudié dans cette direction, le problème n'est pas encore résolu, mais ce qu'on sait à ce sujet n'en mérite pas moins d'être noté.

Nous avons vu plus haut que la terre, aux pieds des ceps de vigne, renfermait de la levure de vin au moment de la vendange. Dans la terre, il n'y a pas toujours du sucre, mais il y a toujours un peu de matière organique et de l'humidité, c'est-à-dire ce qui suffit, comme nous le verrons, à faire vivre de la levure. Il se pourrait donc qu'elle passât là l'hiver. Voyons ce que l'expérience dit à ce sujet.

Recherches de M. Hansen. — M. Hansen a recherché, au laboratoire de Carlsberg, en Danemarck, comment se conservaient les levures d'un été à

l'autre. Pour ces essais, il s'est arrêté à une variété de levure que nous étudierons plus loin sous le nom de *levure apiculée,* parce qu'elle porte d'ordinaire à ses deux extrémités deux petits bourgeons qui la rendent facile à reconnaître.

Cette levure est fréquemment présente dans la fermentation des fruits à jus doux et peu acide, tels que groseilles à maquereau, cerises, prunes, et même pommes et poires. Dans tout le courant de l'été on la trouve à la surface de ces fruits. La pluie doit naturellement, comme pour la levure du raisin, l'amener dans le sol. M. Hansen l'y a recherchée, et l'a en effet trouvée, non seulement pendant l'été, mais même pendant l'hiver. La terre est donc le séjour d'hiver de cette levure, et c'est de là qu'elle revient sur les premiers fruits mûrs, d'où elle passe sur d'autres au fur et à mesure de la maturation.

Recherches de M. Boutroux.— M. Boutroux a étudié d'une manière plus générale les levures de fruits, en appliquant, avec quelques modifications, les procédés de M. Pasteur que nous connaissons déjà.

Il a d'abord recherché si les fruits verts se comportaient comme le raisin et ne portaient pas de germes de levure. Il a trouvé qu'il en était ainsi pour les cerises, les fraises, les groseilles à grappes, mais il a rencontré des levures sur les cassis, les groseilles à maquereau, les framboises et les baies d'épine-vinette, alors que ces fruits étaient encore très éloignés de leur maturité. Les levures de ces fruits sont variables dans leur aspect, la façon dont elles prolifèrent; l'étude n'en est pas encore faite, mais nulle part M. Boutroux n'a rencontré la levure ordinaire du vin.

Sur les fruits mûrs, on trouve les levures déjà rencontrées sur les fruits verts, mais on trouve aussi les levures de vin, dont l'apparition n'est pas moins subite, on le voit, sur ces fruits que sur le raisin lui-même.

En cherchant d'où ces levures de vin pourraient provenir, M. Boutroux a eu l'idée d'examiner les fleurs nectarifères, telles que celles du *sedum rubens* et du *sumac* à feuilles d'orme (*Rhus coriaria*), et il a retrouvé dans la majorité de ces fleurs les levures des fruits mûrs.

Ces fleurs nectarifères sont de celles qui sont fréquentées par les abeilles et une multitude d'insectes. Ces visiteurs doivent donc apporter et emporter de la levure avec eux. L'expérience montre que cette conclusion est exacte. Les insectes nous apparaissent donc comme des agents très actifs de transport des germes de levure, et il suffit que ceux-ci rencontrent, au moment de la maturation des fruits, des jus sucrés, pour proliférer avec une telle rapidité qu'ils peuvent, en très peu de temps, envahir, soit par l'action nouvelle des insectes, soit par celle des vents, soit par celle des pluies, le sol et toutes les plantes qui le recouvrent. Après cette invasion générale, lorsque ces levures répandues partout ont présidé à la destruction de tout le sucre formé par une génération de végétaux sucrés, elles meurent en grande partie, une autre portion se cultive dans le sol pendant l'hiver; une autre peut être emportée par les insectes hibernants dans leurs retraites d'hiver, et il y a, au printemps suivant, des germes tout prêts qui n'attendent qu'une culture dans les fleurs à nectaires ou dans les premiers fruits mûrs pour pouvoir envahir de nouveau l'ensemble du monde organique.

Forme polymorphe de la levure. — Tous ces faits semblent montrer que la levure peut se conserver d'une année à l'autre sous sa forme de levure; mais les faits que nous avons signalés au chapitre précédent montrent aussi que de la levure peut procéder, à la surface des raisins mûrs, de germes qui n'ont aucune ressemblance avec des cellules de levure; de sorte qu'il se pourrait que la levure passât l'hiver sous une autre forme que celle que nous lui connaissons, et à l'aide d'une sorte de génération alternante rappelant celle que nous avons indiquée au sujet du champignon de l'épine vinette.

Ceci nous ramène à l'expérience de M. Pasteur, que nous avons citée au chapitre XXII, et où nous avons vu des globules de levure véritable provenir de certaines cellules brunes trouvées à la surface des fruits ou des bois de grappe. Il ne manque qu'une chose pour établir de ce côté la solution complète du problème, c'est de savoir à quelle espèce il faut rapporter ces cellules brunes, quel est leur habitat pendant l'hiver ou plutôt en dehors de l'époque de la maturité du raisin, quelles sont alors leurs conditions physiologiques d'existence.

C'est là un point sur lequel on ne sait rien de précis. Voici pourtant qui peut éclairer un peu la question. M. de Bary a décrit, sous le nom de *dematium pullulans*, une espèce de champignon extraordinairement répandue, poussant d'ordinaire sur les bois morts, et qui, lorsqu'elle est ensemencée dans une solution de sucre ou même dans l'eau, donne des filaments mycéliens, incolores

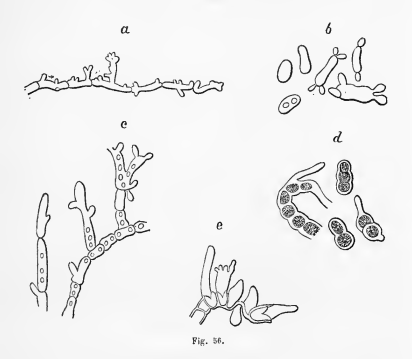


Fig. 56.

et cloisonnés (*a*), fig. 56, d'où se détachent des cellules ovales qui se multiplient par bourgeonnement comme des cellules de levure (*b*). Ces cellules se forment soit à l'extrémité de courts rameaux, soit latéralement sur le fil mycélien. Il peut

s'en succéder plusieurs générations lorsque le milieu est bien approprié. Quand il s'épuise, les cellules s'allongent, grossissent et épaisissent leurs contours en devenant d'abord jaunes, puis de couleur grise. D'autres fois, c'est le fil mycélien lui-même qui grossit, se partage en articles à peine plus longs que larges (*c*), qui s'arrondissent peu à peu, s'enveloppent d'une sorte de membrane brune à double contour (*d*), et se remplissent d'un protoplasma d'aspect huileux. Les cellules bourgeonnantes détachées du végétal peuvent aussi éprouver la même transformation.

Quand ces cellules brunes sont transportées dans un liquide approprié, elles semblent comme s'ouvrir, pour laisser passage à une cellule ovale à contour plus fin (*e*), qui quelquefois se met à bourgeonner de suite, quelquefois se ramifie d'abord en mycélium pour se subdiviser ensuite en articles. Dans tous les cas, on finit par arriver à des globules, en général un peu plus gros que ceux des levures, mais dont les plus petits peuvent être très facilement confondus avec ces derniers.

On reconnaît, dans cette description que nous empruntons à M. de Bary, les aspects caractéristiques que nous a fournis l'étude des levures de la pellicule et des bois des grappes, et qui se retrouvent dessinés dans la fig. 54. Il est vrai que M. de Bary ajoute que son dematium ne fournit jamais de la levure véritable et que les articles dont il a observé la formation sont incapables de produire la fermentation. Mais nous savons que ce caractère d'être ferment n'est pas essentiel. L'important pour le moment est que nos cellules brunes ressemblent à celles d'un dematium, et c'est ce que les faits que nous venons de passer en revue rendent sinon certain, du moins extrêmement probable.

Nous sommes donc autorisés à chercher l'origine des levures dans les *dematium* qui vivent sur les bois morts; et on expliquerait toutes les particularités que nous avons constatées dans le mode d'apparition des levures, en admettant que, à la fin de l'été, un ou plusieurs de ces *dematium* fournissent des cellules capables de prendre et de conserver, pendant une longue suite de générations, le caractère anaérobie.

C'est, avec la persistance de ce caractère en plus, exactement ce que nous avons trouvé pour le mucor. Nous savons du reste déjà qu'il existe, parmi les torulacées, des espèces aérobies et anaérobies. Nous avons appris en outre, par de nombreux exemples, que, des êtres exclusivement aérobies aux êtres anaérobies, il y a tous les intermédiaires possibles, et que toute cellule vivante possède, dans des proportions diverses, ces deux modes d'existence. Une petite variation dans ces proportions est chose parfaitement admissible entre les diverses espèces d'un même genre; et il n'en faut pas plus, si en moyenne le genre tout entier est sur la limite entre les aérobies et les anaérobies, pour que les espèces les plus éloignées qu'il contient appartiennent au point de vue physiologique à deux mondes différents, tout en gardant les ressemblances anatomiques qui les rapprochent.

L'hypothèse que nous venons de faire sur les dematium n'a donc par elle-même rien que de très plausible et de très naturel; mais on l'étayerait évidemment beaucoup si l'on pouvait montrer, dans le monde des levures véritables, une espèce dont le caractère ferment soit indubitable et permanent, et qui s'é-

lève pourtant vers le monde des moisissures, en prenant les mêmes formes intermédiaires que celles que nous avons constatées dans les cellules brunes de la surface des raisins quand elles donnent des levures. C'est un pareil exemple que va nous fournir l'étude du *Saccharomyces Pastorianus.*

Saccharomyces Pastorianus. — Dans une note sur les maladies des vins, publiée en 1864, M. Pasteur décrivait ainsi une levure des fermentations secondaires du vin en tonneaux :

« Il arrive assez souvent, principalement dans le Jura, où les vendanges se font vers le 15 octobre, saison déjà froide et peu favorable à la fermentation, que le vin est encore doux au moment de l'entonnaison : cela se présente surtout dans les bonnes années où le sucre est abondant et la proportion d'alcool élevée, circonstance qui nuit à l'achèvement complet de la fermentation, lorsque celle-ci s'effectue à température basse. Le vin reste doux en tonneau, quelquefois pendant plusieurs années, en éprouvant une fermentation alcoolique insensible. J'ai toujours reconnu dans ces vins le ferment ci-dessous, fig. 57. C'est une sorte

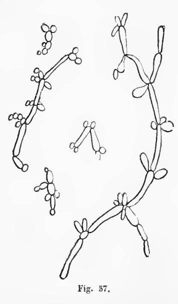


Fig. 57.

de tige avec rameaux d'articles de distance en distance, lesquels sont terminés par des cellules sphériques ou ovoïdes qui se détachent facilement et forment comme les spores de la plante. On voit rarement le végétal aussi complet, parce que ses diverses parties se disloquent, comme cela est indiqué dans la moitié gauche de la figure. »

Cette levure, que l'on trouve aussi sur les fruits acides, a reçu du Dr Reess le nom de *Saccharomyces Pastorianus*, et c'est sous ce nom que nous la désignerons désormais.

Lorsqu'on fait fermenter du jus de cerises, elle est ordinairement présente. On la trouve dès le début de la fermentation sous la forme d'articles allongés,

rameux, souvent pyriformes, plus ou moins volumineux, qui rappellent la forme observée dans les vins, mais qui sont cependant un peu moins longs. A mesure que l'oxygène en dissolution dans le liquide disparaît et que les bourgeonnements se répètent, les articles et les cellules diminuent de longueur, se rapetissent, deviennent presque ronds ou ovales, et, ensemencés à nouveau, se reproduisent sous cet aspect, fig. 58; de sorte que si on n'avait pas suivi la transition, on croirait avoir sous les yeux deux espèces morphologiquement très différentes l'une de l'autre.



Fig. 58. — *Saccharomyces Pastorianus en cultures suivies.*

Ces différences sont dues à ce que le mode de bourgeonnement a changé. Le globule nouveau, au lieu de rester uni au globule mère, dont il ne se distingue quelquefois que par un diamètre un peu plus grand ou un peu plus petit, s'en sépare par un cloisonnement et en devient indépendant. C'est là un fait qui n'est pas particulier aux globules de levure. Nous l'avons signalé dans l'histoire générale des vibrions; nous le retrouverons surtout à propos des ferments des matières albuminoïdes. Partout et toujours, ce sont des changements dans les conditions de nutrition qui provoquent un changement dans la rapidité du cloisonnement; et on peut dire, comme règle générale, sinon comme règle absolue, que le cloisonnement des articles est d'autant plus multiplié que les conditions d'existence deviennent plus défavorables.

Dans le cas de notre *saccharomyces*, il semble que ce soit surtout la privation d'oxygène qui provoque la transformation des articles allongés et irrégulièrement renflés en une série de cellules, de plus en plus courtes et de plus en plus petites.

On se tromperait pourtant si on croyait pouvoir conclure de ce que nous venons de dire, qu'on reviendrait sûrement aux formes allongées et globuleuses en faisant vivre, dans un liquide sucré et au contact de beaucoup d'air, les cellules disjointes qu'on trouve dans le dépôt des vieilles fermentations par le *saccharomyces pastorianus*.

C'est qu'il y a une différence autre que celle qui vient de l'air, entre les cellules de ce dépôt et celles de la surface des fruits. Les premières ont vieilli, mais en présence d'un milieu nutritif, dans lequel leur croissance a été facile et rapide, et dans lequel ne manque, et encore pas toujours, que du sucre, pour qu'il devienne immédiatement propre à un nouveau développement. Les cellules de la surface des fruits ont bien le large contact de l'air, mais sont évidemment dans un milieu par ailleurs très défavorable.

Si nous voulons essayer de revenir des formes disjointes et globuleuses de la levure de dépôt aux formes longues, tubulées, pyriformes, propres à la germination des cellules germes répandues parmi les poussières de la surface des fruits, il faut que nous mettions ce dépôt dans des conditions analogues à celles qu'il rencontre sur la pellicule du fruit, que nous le soumettions pendant un temps prolongé à une sorte d'inanition, pendant laquelle, comme nous le verrons plus tard, il consomme sa propre substance. Il ne bourgeonne plus alors, sa vie est trop difficile pour cela. Il ne meurt pas non plus, à moins qu'on ne pousse l'expérience trop loin : la vitalité de ces êtres inférieurs est trop grande, et leurs besoins trop restreints, lorsqu'ils se bornent au strict nécessaire. Mais il résulte de ce mode de vie une sorte de faiblesse qui se traduit, dans les premiers développements, par des formes monstrueuses. Ici la forme monstrueuse est précisément la forme rameuse et tubulée.

Épuisement de la levure. — Il y a plusieurs moyens d'arriver à ce que nous appellerons cet état d'épuisement de la levure, faute d'une autre expression. On peut d'abord la faire vivre à l'air pur sans aliments. Pour cela, après l'avoir cultivée dans du moût de bière, dans un ballon à deux tubulures, comme celui de la fig. 36, on décante avec précaution le liquide alcoolique par la tubulure droite, en laissant le dépôt de levure sur les parois du ballon. On referme la tubulure droite, et on abandonne la levure au contact de l'air pur. Il se fait dans les cellules un travail incessant, parce qu'elles continuent à respirer et à vivre. Leurs contours s'épaississent, leur protoplasma devient granuleux, de demi-fluide qu'il était. Au lieu de remplir complètement le sac qui le contient, il se contracte et semble quelquefois quitter la paroi. La levure devient ce qu'on peut appeler de la levure vieille, pouvant se rajeunir lorsqu'on la sème dans un liquide sucré, mais y mettant d'autant plus de temps qu'on lui a plus longtemps fait attendre des aliments. Nous avons vu, au commencement de ce chapitre, un exemple très remarquable de ce fait.

On peut arriver au même résultat par un autre moyen. Après avoir décanté

la bière, comme tout à l'heure, on relie la tubulure, par laquelle s'est fait l'écoulement, avec le caoutchouc qui ferme un autre ballon à deux tubulures, renfermant une dissolution à 10 p. 100 de sucre candi stérilisée. Quand les deux ballons communiquent ensemble, on relève celui qui contient l'eau sucrée, de façon à la faire écouler dans l'autre, pendant qu'un aide flambe à l'aide d'une lampe à alcool le col sinueux du ballon qui se vide, afin qu'il n'y rentre pas, avec l'air, de germes vivants pouvant contaminer le liquide et pénétrer avec lui dans le ballon à levure.

La première eau sucrée qu'on fait ainsi arriver sur la levure fermente, mais péniblement. La levure n'a de nourriture azotée que celle qu'elle trouve en elle-même, et qui passe, en plus ou moins grande abondance, dans le liquide par voie de diffusion. Les éléments minéraux suivent la même voie. Bref, quand cette première fermentation est achevée, et même avant qu'elle ne s'achève, la levure est évidemment plus épuisée que lorsqu'elle a été séparée du moût de bière ou de raisin où elle s'était développée tout d'abord.

On remplace cette première eau sucrée par une seconde; puis, si c'est nécessaire, par une troisième, et on finit toujours par arriver à une dernière eau sucrée que la levure ne fait plus fermenter.

Il est clair, *a priori*, qu'on serait arrivé au même résultat, ou à peu près, en ajoutant en une seule fois le volume d'eau sucrée que représentent les charges successives du ballon à levure. Cette remarque conduit à un procédé opératoire différent, qu'on peut mettre en pratique quand on n'aura pas besoin d'avoir de grandes quantités de levure épuisée.

Dans l'eau sucrée d'un de nos ballons bitubulés dont nous venons de nous servir, on introduit une semence de levure, qu'on a été puiser dans le ballon qui la renferme, à l'aide d'un tube fin, récemment flambé. Une fermentation commence, très souvent invisible à l'œil, parce que l'acide carbonique n'arrive pas à saturer le liquide du ballon et à se dégager sous forme de bulles. La transformation du sucre reste toujours incomplète, et la levure devient bientôt inerte, par le même mécanisme que plus haut, dans ce milieu où elle ne trouve que quelques-uns des éléments nécessaires à sa nutrition.

On peut encore remplacer l'eau sucrée par de l'eau de levure non sucrée. C'est toujours le même principe. Ici, la levure a ce qu'il lui faut en fait d'aliments azotés, mais l'aliment hydrocarboné lui manque. Elle bourgeonne faiblement, dans la mesure de ce que la goutte de semence a apporté avec elle de cet aliment hydrocarboné du milieu où elle a été puisée, ou de ce que la levure en a conservé dans ses tissus. Le travail intérieur et le changement d'aspect des cellules s'accomplissent comme plus haut, la levure se flétrit et s'use, mais elle ne meurt qu'au bout d'un temps très long, car M. Pasteur a réussi à en conserver deux ans vivante sous de l'eau sucrée.

Rajeunissement du Saccharomyces. — Lorsqu'on sème maintenant cette levure vieillie dans un milieu aéré convenable, ce n'est pas seulement par la lenteur de son premier développement qu'elle traduit son état de souffrance antérieur, c'est encore, et c'est là ce qui nous ramène au sujet de ce chapitre, par son mode de développement. On voit reparaître les longs

articles rameux, émettant à leurs articulations des articles plus courts ou même des cellules rondes, comme les levures issues des germes déposés à la surface des fruits. Dans certains cas même, on retrouve des formations tout à fait analogues à celles des germes de la surface du raisin, et que nous avons rapportées aux *dematium*. Enfin, dans d'autres cas, on croirait avoir sous les yeux les chaînes de tubes et de fuseaux plus ou moins pyriformes du mucor levure.

Toutes ces coïncidences ne sont pas fortuites. Il est évident que le polymorphisme, avec des allures plus ou moins accusées, est la loi générale de ce monde de végétaux levures que nous étudions maintenant. Rien, en vérité, n'est moins surprenant. Nous avons vu, d'une façon certaine, un changement dans ces conditions d'existence se traduire par des changements profonds dans le travail physiologique de la cellule, faire des ferments de celles qui étaient des agents de combustion, ou des agents de combustion de celles qui étaient des ferments. Quoi de plus naturel que de voir des modifications de formes accompagner ces modifications de fonctions? Mais ceci même n'est pas une hypothèse, et résulte des faits. Le mucor ferment pousse autrement que le mucor moisissure. La levure moisissure donne des développements rameux bien plus compliqués et bien plus abondants que lorsqu'elle est ferment. Le Saccharomyces Pastorianus moisissure est en articles rameux et allongés, mais il est de préférence ferment et a alors une forme plus courte et plus petite. Le dematium ferment de la levure du raisin a des formes rondes, mais il est de préférence moisissure, et a alors une forme encore inconnue. Il n'y a là partout que des phénomènes de même nature, s'éclairant et s'expliquant les uns par les autres.

Nous n'avons pas fini avec l'étude des formes diverses que peut affecter la levure. Nous allons voir qu'elle peut quelquefois devenir méconnaissable, sans changer d'espèce et en conservant l'intégrité de ses fonctions. C'est lorsque, au lieu de donner les bourgeonnements plus ou moins rameux que nous avons appris à connaître jusqu'ici, elle forme dans son intérieur de véritables spores. analogues à celles que nous avons vues se produire chez les champignons ascosporés. Ces phénomènes ont été découverts par M. de Seynes, en 1868, sur le mycoderma vini, et par M. Reess, en 1869, sur les levures. Voici dans quelles conditions ils se manifestent.

Fructification des levures. — On lave à plusieurs reprises de la levure, et après l'avoir laissée se déposer dans de l'eau distillée, on décante le liquide surnageant, et on fait avec la levure une masse pâteuse qu'on étend en couche mince à la surface de tranches crues ou cuites de pommes de terre, de choux-raves, de topinambours, ou mieux encore, de carottes. On expose le tout ensemble sous une cloche, à un air modérément chargé d'humidité. Il faut éviter que les tranches laissent suinter de l'eau, ou qu'il en tombe de l'extérieur sur la couche de levure. Toute gouttelette d'eau dans ces conditions est rapidement envahie par les bactéries, qui s'emparent bientôt de toute la culture et arrêtent tout développement.

Pendant cette culture, les globules de levure continuent à vivre et à proliférer comme s'ils étaient dans une « solution fermentescible de faible concen-

tration ». Au bout de trois ou quatre jours, ce bourgeonnement cesse, quelques-uns des globules périssent, d'autres grossissent et passent, avec la levure basse, de 8-9$^{\mu}$ à 11-14$^{\mu}$. Les grosses vacuoles des cellules disparaissent, et à leur place on voit une masse protoplasmique, finement granuleuse, avec de petites vacuoles et des globulins gras, fig. 59 (*a*).

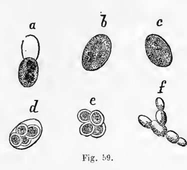


Fig. 59.

Du cinquième au sixième jour, on voit apparaître dans la masse protoplasmique deux, trois ou quatre îlots plus denses, autour desquels le reste du protoplasma se réunit peu à peu, et qui se différencient de plus en plus du reste de la masse (*b*) (*c*). Ces îlots, ainsi individualisés, ont chacun un noyau plus réfringent et s'entourent en vingt-quatre heures d'une membrane mince. La cellule primitive contient alors (*d*) deux, trois ou quatre cellules filles, d'environ 4 à 5$^{\mu}$ chacune, qui deviennent libres au bout de quelques jours par rupture ou résorption du sac qui les contient (*e*). L'évolution complète dure au minimum de quinze à seize jours.

Lorsqu'on porte ces cellules filles, isolées ou encore entourées de la membrane enveloppante de la cellule primitive, dans un liquide fermentescible convenable, elles commencent par se gonfler; puis quelques-unes poussent des bourgeons qui ressemblent aux bourgeons ordinaires de la cellule mère, sont d'abord un peu plus petits (*f*), mais arrivent bientôt à la grosseur normale. On a donc le droit d'assimiler ces cellules filles à des spores. Ce bourgeonnement ne se produit pas, même lorsque le milieu est très favorable, lorsque la spore est plongée dans la profondeur du liquide. Il exige d'une manière absolue le contact de l'air.

On voit que ce procédé revient à traiter la levure comme nous l'avons fait tout à l'heure pour le *dematium pullulans*, quand nous avons voulu changer son mode de reproduction. Nous l'avons pour cela soumis à une sorte d'inanition en le portant dans un milieu plus pauvre. Les tranches de pommes de terre ou de carottes ne sont évidemment pour le globule de levure qu'un substratum mal approprié. Le globule vit quelques jours aux dépens de ce qui l'entoure, puis donne la spore. On peut supprimer à peu près complètement la première période de transition en coulant la bouillie de levure sur une plaque de plâtre poreux, comme l'a proposé M. Engel. En maintenant cette plaque noyée par sa base dans l'eau, on voit commencer de suite le travail de formation des spores.

J'ai répété dans ces conditions les expériences de Reess, et observé quel-

ques faits qui ne sont pas complètement d'accord avec les résultats de ce savant. La première apparition de ce qui sera plus tard la spore m'a toujours paru précédée de la formation dans la cellule primitive d'une ou plusieurs vacuoles, dans chacune desquelles on voit s'agiter, d'un mouvement incessant, un petit granulin presque imperceptible, très noir et très réfringent. Ces vacuoles grandissent, en même temps que la masse protoplasmique est refoulée contre les parois. Là elle se condense autour de deux ou trois points, en général voisins, et qui sont probablement ceux où sont venus adhérer les granulins dont nous parlions tout à l'heure, car on retrouve dans les spores en voie de formation ce granulin avec sa forme, son aspect et ses dimensions.

Ces spores prennent ensuite des contours de plus en plus nets, et s'entourent d'une membrane qu'un fort grossissement fait apparaître double comme l'avait vu Reess. Puis la membrane enveloppante se détruit, mais non par résorption, car on en trouve les débris; elle semble se rompre et tomber en deliquium comme par une véritable digestion.

Quand on reporte dans un liquide fermentescible les spores isolées ou encore enveloppées de leur sac, il se produit des phénomènes que je n'ai trouvés bien indiqués nulle part.

Dans certaines cellules où les spores ne sont pas mûres, ces spores disparaissent peu à peu, en laissant seulement pendant quelque temps, sur leurs surfaces de contact, comme les débris de la membrane qui commençait à les entourer. La masse protoplasmique est redevenue unique, et la germination a lieu comme avec les globules de levure normaux.

Dans d'autres cellules, où la formation de la spore est plus avancée, mais où le globule mère n'a pas encore commencé à se détruire, celui-ci se met à donner un bourgeon comme à l'ordinaire. Reess a représenté un globule avec trois spores et un bourgeon latéral. Le fait ne lui a donc pas échappé ; mais ce qu'il paraît avoir méconnu, c'est son haut degré de généralité. Quand on reporte la levure dans un liquide fermentescible, dans les premiers jours qui suivent la formation des spores, ce sont précisément les vieilles cellules non encore mortes qui germent, et qui donnent les bourgeons normaux attribués par Reess au développement des spores.

Celles-ci restent ordinairement inertes à ce moment. Elles grossissent seulement un peu, de façon à augmenter de moitié leur diamètre: soit que leur maturité ne soit pas venue, soit que l'acide carbonique qui se dégage autour d'elles les arrête, comme le pense Reess, elles restent rondes, quelquefois l'une d'elles grossissant plus que l'autre, on pourrait croire à un bourgeonnement en forme de sphère. Mais il suffit de suivre le phénomène pendant quelque temps pour en reconnaître la nature.

Pour assister au développement des spores, il faut laisser la préparation vieillir, ce que Reess n'a pu faire sans doute, à cause de l'apparition fatale des bactéries dans les conditions où il opérait, et ce qui n'est possible avec le procédé de M. Engel qu'en prenant toutes les précautions possibles pour n'opérer que sur de la levure pure, et avec des vases bien stérilisés. On voit alors que toutes les anciennes cellules disparaissent. Toutes les spores deviennent libres, et semées dans un liquide convenable elles bourgeonnent, mais en conservant

leurs formes rondes et une grosseur intermédiaire entre celle du globule primitif et celle qu'elles avaient lorsqu'elles se sont formées dans son intérieur Cette forme ronde persiste pendant plusieurs générations dans le même liquide, ce que prouve l'existence de chapelets rameux dont tous les globules ont la même forme et à peu près les mêmes dimensions, mais je n'ai pu réussir à voir si elle était persistante dans des changements successifs de milieu. Le liquide est bientôt envahi par des êtres à développement plus rapide qui rendent toute conclusion incertaine.

Expériences de M. D. Cochin. — Dans un travail encore inédit, M. D. Cochin paraît avoir éludé ces difficultés en déterminant la production des spores par un procédé nouveau, le chauffage de la levure, à une température voisine de celle à laquelle elle périt, dans un liquide peu favorable à son développement. Dans ces conditions, les spores se forment, peuvent être isolées des cellules normales, et se reproduire avec leurs caractères dans une longue série de générations. C'est là une autre forme de développement de la levure qu'on peut fixer et perpétuer comme l'autre. Le retour dans un liquide sucré fait reparaître peu à peu la levure *ferment*, et corrélativement la forme, primitivement ronde, redevient peu à peu ovale. La filiation des deux formes est mise par là au-dessus de toute discussion.

On voit donc que, pendant une certaine période au moins, la levure peut affecter des formes qui la rendent méconnaissable. Il y a probablement d'intéressants résultats à découvrir dans cette étude des spores. Il faudra voir si elles peuvent germer immédiatement, ou si elles ont besoin d'une sorte de repos de maturation, si elles sont plus résistantes à l'action du temps et de la chaleur que le globule mère; mais leur existence, leur facile formation quand les aliments manquent à la levure, laissent croire qu'elles jouent un rôle dans la conservation de l'espèce, et qu'il faut peut-être aussi chercher de ce côté, quand on cherche pour le globule de levure une autre origine que celle qui le fait dériver, par voie de gemmation, d'un autre globule identique à lui-même.

BIBLIOGRAPHIE

Pasteur. — *Études sur la bière.*

Hansen. — Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. *Meddelser fra Carlsberg Laboratoriet*, 3e livraison. Copenhague, 1881.

Boutroux. — Sur l'habitat et la conservation des levures spontanées. *Bulletin de la Société Linnéenne de Normandie*, 3e s., VI.

De Seynes. — *Bulletin de la Société botanique*, 1868.

Reess. — *Botanische untersuch.* Leipzig, 1870.

CHAPITRE XXIV

PURIFICATION DES LEVURES

Tout ce que nous avons appris jusqu'ici doit nous faire présumer qu'il existe diverses sortes de levures. Nous connaissons en effet déjà, outre la levure du mucor, la mycolevure, et le Saccharomyces Pastorianus, que nous savons différer de la levure de bière ordinaire.

Cette idée de la multiplicité des levures est contraire à une opinion, assez généralement répandue chez les industriels et les savants, en vertu de laquelle les différences morphologiques des diverses levures, et même leurs différentes qualités industrielles, seraient une affaire de milieu et dépendraient des conditions de nutrition. Hallier a même été jusqu'à affirmer que toutes les levures existant à la surface de la terre n'étaient que des transformations d'une même plante, le *penicillium crustaceum.* Il n'est plus question aujourd'hui de cette opinion, formellement contredite par l'expérience; mais il est toujours difficile de montrer que deux levures, en apparence différentes, ne proviennent pas en réalité l'une de l'autre. La plupart des levures du commerce et de l'industrie sont des mélanges assez complexes, et, lorsqu'on croit trouver en elles une espèce pure, on en a souvent deux ou trois. Telle d'entre elles, qui existe en si petite quantité qu'on ne la distingue pas au microscope, peut très bien prendre le pas dans une expérience dirigée en vue de transformer, par un changement de nutrition, l'espèce qu'on croit unique, et on peut alors croire à une modification de formes et de propriétés, lorsqu'on assiste, en réalité, à une évolution naturelle. Si on ajoute à cela que jusqu'au moment où M. Pasteur a enseigné à faire des cultures pures, tous les observateurs, même M. de Bary, qui s'en plaignait, ont été exposés à des ensemencements spontanés et à toutes les erreurs qui peuvent en résulter, on comprendra que nos connaissances sur ce sujet soient encore bien restreintes, et que, sur quelques points, elles soient restées encore un peu confuses.

Nous ne regarderons une levure comme pure et homogène que lorsqu'elle satisfera aux conditions suivantes.

Elle devra d'abord présenter toujours la même forme, et à peu près la même grosseur, lorsqu'elle sera cultivée dans les mêmes conditions. Si, comme le Saccharomyces Pastorianus, elle a des formes extrêmes séparées par des formes

de transition, il faudra, pour affirmer qu'il n'y a pas là deux espèces différentes, non seulement étudier les formes de transition, ce qui est affaire d'observation au microscope, mais encore connaître pour elle le cycle complet, savoir comment on passe d'une forme extrême à l'autre forme extrême, et comment on revient au point de départ à travers une série de cultures multipliées et successives. C'est là l'affaire d'une expérimentation soigneuse, très souvent hérissée de difficultés, qu'on ne peut aborder avec quelques chances de succès qu'en mettant en œuvre les procédés de culture de M. Pasteur, qui forment, comme on voit, le fond de toute cette partie de la science.

Une autre condition de pureté et d'homogénéité est que la levure, cultivée dans les mêmes conditions, donne toujours lieu aux mêmes transformations chimiques dans le milieu où elle vit, donne par exemple, avec la même quantité de sucre, la même proportion d'alcool, d'acide carbonique, d'acide succcinique, de glycérine, etc. *A priori*, il n'y a aucune raison pour que toutes les levures soient identiques sous ce rapport. Il y a même quelques faits qui montrent entre elles d'assez grandes variations, mais ces faits ne sont malheureusement pas encore assez nombreux. En leur absence, nous pouvons heureusement consulter un caractère différentiel qui a, au point de vue industriel, une importance considérable, c'est le goût que prend la bière suivant qu'elle est produite par telle ou telle levure. Nous aurons souvent recours à ce moyen de distinction.

L'action de la température peut encore fournir un très bon critérium pour juger de l'homogénéité d'une levure. Chacune d'elles a une température de prédilection, où son développement et son action sont plus rapides qu'à toute autre. Elle a aussi sa température critique, celle au delà de laquelle elle est tuée. Malheureusement, des renseignements précis manquent aussi sur ces deux sujets et surtout sur le dernier. On trouverait pourtant là, et nous en donnerons des exemples, d'excellents moyens de purification et de séparation des deux levures mélangées.

Purification des levures commerciales. — Aucune levure du commerce n'est en état de satisfaire à toutes les conditions que nous venons de poser. Pour le prouver, on n'a qu'à faire fermenter avec elle, dans un ballon à deux tubulures, du moût de bière pur. Si la levure est pure et homogène, la bière se fera, prendra un goût franc, qu'elle conservera indéfiniment en s'éventant un peu, mais sans qu'apparaisse à la surface aucune trace de fleurs, ou, dans son intérieur, aucun ferment capable de modifier son goût et de la rendre impotable.

Avec presque toutes les levures du commerce, la bière, ainsi préparée, et conservée à l'étuve, sera tout à fait détériorée au bout de quelques jours de fabrication, parce que ces levures contiennent des ferments de maladie ou des semences de mycodermes ou de torulas. Ces germes étrangers peuvent échapper même à une inspection microscopique soigneuse, soit parce qu'ils sont très peu nombreux, soit parce que leurs formes ne les distinguent pas nettement de la levure. Ils n'empêcheront pas, en général, au moins dans les premiers temps, la levure commerciale de produire la fermentation qu'on lui demande; mais lorsque, après avoir épuisé le sucre, la levure suspendra ou ralentira son action,

ces ferments étrangers s'empareront du liquide, et tantôt successivement, tantôt simultanément, y amèneront des transformations fâcheuses.

Le premier soin doit donc être de débarrasser la levure de tout ce qui n'est pas de l'espèce *saccharomyces*, capable de faire fermenter le sucre. Le moyen le plus général pour cela est de profiter de la puissance de bourgeonnement de la levure, lorsqu'elle est en liquide sucré, au contact de l'air. Grâce à sa fécondité, elle prend rapidement le pas sur toutes les espèces parasites; et si, de 24 heures en 24 heures, on fait de nouveaux ensemencements, en prenant à chaque fois la semence dans la culture la plus récente, on arrivera, au bout de très peu de temps, à éliminer tous les ferments étrangers, qui sont autant gênés dans leur développement par l'accès de l'air que favorisés par son absence. C'est l'inverse pour la levure. On met ainsi en jeu le caractère aérobie ou anaérobie des divers microbes.

Les mycodermes, mélangés d'ordinaire à la levure, résistent un peu mieux à ce traitement que les autres ferments étrangers. Ils disparaissent pourtant aussi peu à peu, parce que leur développement est toujours plus lent que celui de la levure. On peut les supprimer plus sûrement, en faisant des cultures alternatives dans du moût de bière, et dans de l'eau sucrée à 10 p. 100. Ce dernier milieu est très épuisant pour les levures, nous l'avons vu, mais il l'est encore plus pour un certain nombre d'organismes étrangers, qui, à l'inverse de la levure, ne peuvent pas s'accommoder du sucre qu'il contient. On fait varier ses propriétés sous ce point de vue, en y ajoutant un ou deux millièmes d'acide tartrique, par exemple, ce qui donne une acidité suffisante, ou bien 1 à 2 p. 100 d'alcool.

On peut, on le voit, opérer de bien des manières, sur lesquelles il n'y a à dire que ceci de général, c'est que, pour favoriser une espèce au détriment des autres, il faut lui donner l'aliment ou les conditions physiques qu'elle préfère; pour arriver à la faire disparaître, lui donner d'autres aliments que ceux qu'elle aime, ou la faire vivre, dès l'abord, en présence des produits qu'elle fournit, lorsqu'elle préside à une fermentation régulière. Nous avons vu en effet qu'en général, toutes les cellules vivent plus péniblement dans le milieu qu'elles ont transformé.

Séparation des espèces de levures. — On arrive ainsi facilement à purifier une levure de tout ce qui est incapable de produire la fermentation alcoolique des dissolutions sucrées. Mais le problème devient plus difficile quand cette première série d'opérations n'a donné qu'un mélange de deux levures différentes qu'il s'agit maintenant d'isoler. Cela n'arrivera pas fréquemment, surtout si on a eu l'occasion de faire une série de cultures multipliées et successives dans le même liquide et dans les mêmes conditions. Il y a presque toujours alors, dans l'hypothèse d'un mélange de deux levures, l'une d'elles qui prend le pas sur l'autre. Mais ce n'est pas toujours celle qu'on recherche, et nous avons à examiner le cas général où il s'agit de séparer deux ou plusieurs levures mélangées.

Les variations dans les conditions d'alimentation ne peuvent plus jouer ici un aussi grand rôle que tout à l'heure, ce qui est très bon pour quelques variétés, étant en général aussi très bon pour toutes les autres. Peut être y aurait-il

quelque chose à chercher du côté du changement dans la dose du sucre, la nature des aliments albuminoïdes, ou l'acidité plus ou moins grande de la liqueur. Mais il vaut mieux profiter de ce que les diverses levures ont des aptitudes très inégales à conserver leur vitalité dans les milieux où on les cultive, surtout lorsque ces milieux ne sont pas complets, c'est-à-dire ne renferment pas tout ce qu'il faudrait à la levure pour son développement.

Action de l'épuisement. — Qu'on épuise, en présence de l'eau sucrée, comme nous avons appris à le faire dans le chapitre précédent, un échantillon de levure du commerce, même celle qui, examinée en détail au microscope, paraît la plus pure, on trouvera, en faisant à diverses époques une prise de semence dans cette eau sucrée pour la porter dans du moût de bière, que les développements qu'on obtiendra n'auront pas la même forme. Presque toujours, lorsque l'une des levures sera morte ou mourante, il y en aura une autre ayant conservé assez de vitalité pour se développer la première et, malgré son infériorité numérique, arriver à l'emporter sur l'autre ou même à dominer. Chose singulière, il arrivera souvent que cette levure vivace sera le *Saccharomyces Pastorianus*, qui doit précisément à sa force de résistance d'être présente à peu près partout, quand il y a du sucre à faire fermenter.

Fréquemment, chez les infiniment petits, la durée de la vie est en raison inverse de l'activité fonctionnelle. On aura donc des chances, dans le cas qui précède, de séparer la levure mélangée au *Saccharomyces Pastorianus* en faisant des cultures successives, qu'on ensemence les unes avec les autres, aussitôt qu'il y a eu dans la dernière faite un commencement de développement. C'est alors la levure la plus active qui l'emporte et finit par dominer.

Action de la chaleur. — Un autre moyen, dont la mise en œuvre est plus facile et plus rapide que pour ceux qui précèdent, revient à profiter de l'action inégale de la chaleur sur les diverses espèces de levures. On peut employer la chaleur comme agent physiologique ou comme agent pathologique, la faire servir soit à favoriser le développement d'une levure déterminée, soit, en l'élevant à un niveau suffisant, à tuer certaines cellules en respectant certaines autres. Nous trouverons dans le chapitre suivant divers exemples de ce double emploi. Je n'en citerai ici qu'un seul, emprunté à la pratique des brasseurs.

Il arrive quelquefois que des bières se clarifient très difficilement et redeviennent troubles à la moindre agitation. Elles contiennent alors, en dehors de leur levure normale, une autre levure à cellules rondes et plus petites, que nous apprendrons à connaître sous le nom de *Saccharomyces exiguus*. Cette levure, en vertu de sa ténuité, reste très facilement en suspension. Lorsqu'elle est présente en trop grande quantité, c'est un véritable malheur pour la brasserie. Pour éviter sa présence dans la mesure du possible, ou au moins pour paralyser son développement, on a pris l'habitude de faire passer de temps en temps la levure par une fermentation à une température un peu élevée, en l'introduisant dans du moût chauffé. La levure ordinaire s'accommode mieux de ces conditions que le *saccharomyces exiguus*, et peut ainsi l'étouffer. Faisons remarquer en passant qu'il ne faudrait pas plus, il semble, que cette expérience,

familière à certains brasseurs, pour les amener à penser qu'il y a plusieurs espèces de levures, et qu'ils n'ont pas toujours affaire, comme ils le croient, à la même espèce, modifiée par les conditions de nutrition et de milieu.

Enfin, on peut, dans certains cas, mettre en jeu des actions moins profondes. En jetant sur un filtre un mélange de Saccharomyces exiguus avec une levure à grosses cellules, on amènera la première à dominer dans le produit filtré, la seconde dans les produits restés sur le filtre. Il ne faut souvent pas autre chose qu'une prédominance à l'origine de la culture pour assurer la suprématie pendant toute la fermentation et, par suite, dans une nouvelle série de fermentations, filles les unes des autres. Un terrain également favorable à deux espèces appartient au premier occupant, et lui appartient d'autant mieux que l'identité des besoins est plus accusée entre les deux espèces qui se le disputent.

Par tous ces artifices, employés isolément ou combinés les uns avec les autres, on arrive en général facilement à séparer d'un mélange une levure déterminée. On peut, par exemple, en partant d'une levure de brasserie donnant dans certaines conditions une bière d'un certain goût, arriver à préparer à l'état pur et homogène la levure particulière qui donne ce goût; et on s'assurera qu'elle est pure, lorsque le goût de la bière, une fois fabriquée, se conservera sans altération, en prenant seulement un goût d'évent, si elle est conservée dans un ballon à deux cols. Mais nous avons le droit de nous demander si, même alors, nous avons affaire à une espèce unique, ou bien si, l'espèce étant unique, elle n'est pas composée d'un certain nombre de variétés.

Différences individuelles dans les globules de levure. — Rien ne peut nous dire, en effet, si toutes les cellules qui constituent un lot de levure sont, ou non, individuellement identiques. Chacune de ces cellules a des propriétés d'espèce et de race qu'elle partage avec les cellules voisines, et, en outre, des caractères propres qui la distinguent, et qu'elle peut transmettre de génération en génération. Ce que nous savons au sujet des virus animés, plus ou moins virulents, autorise bien des hypothèses, et celle que nous faisons a des précédents.

Si donc on pouvait arriver à cultiver à part chacune des cellules d'une levure, on obtiendrait vraisemblablement des variétés de levures qui pourraient peut-être se transformer les unes dans les autres dans certaines conditions de nutrition, mais qui, dans d'autres, se conserveraient aussi différentes que l'étaient leurs cellules d'origine.

Il n'y a eu qu'un petit nombre d'expériences faites sur ce sujet par M. Pasteur, mais elles ont été toutes favorables à l'idée contenue dans les déductions qui précèdent. On les fait en mélangeant, comme nous avons appris à le faire plus haut (p. 287), de la levure avec du plâtre, et en réduisant le tout, après dessiccation, en une fine poussière. On laisse tomber d'une assez grande hauteur un nuage de cette poussière et, à une certaine distance au-dessous, on ouvre un certain nombre de ballons vides d'air comme ceux que nous avons employés p. 64, pour étudier la distribution des germes vivants dans l'air. Ces ballons renferment un liquide fermentescible et sont aussitôt refermés. Il pourra se faire que tel ou tel de ces ballons ne reçoive du nuage, très élargi par la chute, qu'une cellule

de levure, qui se développera en donnant des nouvelles cellules, toutes filles de la même mère. On pourrait arriver au même résultat en diluant une petite quantité de levure dans une masse d'eau stérilisée, où on irait ensuite puiser des gouttes pour de nouveaux ensemencements. Il y a là matière à des découvertes intéressantes, parce que les faits qu'on découvrirait dans ce monde, relativement facile à étudier, des levures alcooliques, s'appliquerait sans doute au monde plus mystérieux des vibrions et des virus animés.

Levures spontanées. — L'expérience dont nous venons de parler est souvent faite sans qu'on en ait conscience. Quand on expose à l'air un liquide sucré nutritif, et qu'on voit une fermentation y apparaître, c'est que l'air y a déposé un ou plusieurs germes, dont toute la différence avec ceux que nous cherchions à recueillir tout à l'heure est qu'ils ont une origine inconnue. D'un autre côté, on se souvient que, lorsque nous avons voulu chercher la nature des germes présents dans l'air, nous avons constaté que, sauf des circonstances exceptionnelles, à moins que l'on n'opère, par exemple, dans un laboratoire livré à des études sur les fermentations, les levures alcooliques sont rares dans l'atmosphère.

On a donc le droit de considérer comme probable que, lorsqu'une fermentation s'établit d'une façon spontanée dans une dissolution sucrée artificielle exposée à l'air, le germe du ferment était souvent unique.

Il n'est pas question ici, bien entendu, des fermentations qui se déclarent spontanément dans le jus de raisin ou de fruits écrasés. Comme nous le savons, ces fermentations n'ont de spontané que l'apparence. Dans la réalité, elles sont très régulièrement ensemencées par les germes provenant de la surface du fruit. Mais des liquides sucrés enfermés dans nos ballons à col effilé, qui, après avoir été mis par l'ouverture brisée du col en communication avec l'air, entrent en fermentation, fermentent, en général, sous l'action d'un germe unique.

I est remarquable qu'on trouve alors fréquemment des formes connues, surtout celles du Saccharomyces Pastorianus; mais plus fréquemment encore on trouve des formes qui ne se rapportent exactement à aucune espèce bien déterminée, et qui ont quelque chose d'étrange dans leurs allures. Ce fait est évidemment très favorable à l'idée qu'il y a un grand nombre de variétés qui peuvent sans doute, comme nous l'avons dit plus haut, passer des unes aux autres, mais qui, à un moment de leur existence, sont individuellement distinctes, et pourraient se conserver telles dans de certaines conditions de nutrition.

Nous étudierons, dans le chapitre suivant, les espèces de levures les mieux connues, en les rangeant dans l'ordre de leur importance industrielle. Sous ce point de vue, les levures dites *haute* et *basse* des brasseries méritent incontestablement le premier rang.

BIBLIOGRAPHIE

PASTEUR. — *Études sur la bière.* Paris, Gauthier-Villars, 1876.
BOUTROUX. — Sur l'habitat et la conservation des levures spontanées. *Bulletin de la Société Linnéenne de Normandie*, 3e s., t. VI.

CHAPITRE XXV

LEVURES DIVERSES

Dans l'industrie de la bière, on distingue deux sortes de fermentation, la fermentation haute et la fermentation basse, distinctes l'une de l'autre, non seulement par les pratiques de la fabrication, mais encore par la nature des levures employées et le goût de la bière obtenue. Leurs noms paraissent tirés de ce que la première se fait à des températures basses. Elle est, par suite, très lente. La fermentation haute se fait à la température ordinaire, et deux ou trois jours suffisent à la terminer.

Les deux levures qui les produisent pourraient-elles passer de l'une à l'autre. Beaucoup de brasseurs admettent que oui, tout en les distinguant soigneusement, et évitant, autant que possible, de voir s'opérer ce passage, qui serait dangereux pour leur fabrication. Nous allons voir que cette opinion est erronée, et que les deux levures sont distinctes l'une de l'autre.

Levure haute. — Quand on examine au microscope un dépôt de levure haute après fermentation, on la voit formée de globules presque sphériques ou très peu allongés, d'une grosseur un peu supérieure à celle des autres levures, et d'un aspect turgescent plus prononcé qu'ailleurs. Si on sème dans un liquide aéré et sucré quelques-unes de ces cellules, on voit chacune d'elles émettre un petit bourgeon qui grossit jusqu'à atteindre la grosseur du globule-mère. Ces deux globules, sans se détacher, émettent chacun un nouveau bourgeon, qui se comporte comme le premier et bourgeonne à son tour, en même temps que le globule qui lui a donné naissance. Tous ces globules de générations diverses restent unis, et forment des paquets rameux, très touffus quelquefois, et dont l'observation au microscope est des plus attachantes, à raison de leur complication, de l'air jeune et rebondi des cellules, de la finesse des contours et de l'aspect gélatineux du protoplasma, fig. 60. Ces paquets de globules ne restent pas longtemps unis. Au fur et à mesure que la fermentation s'avance, ils se disloquent, et, quand elle est terminée, on retombe sur les globules isolés que nous envisagions en commençant.

A ces caractères histologiques viennent se joindre des caractères plus apparents. La fermentation se déclare rapidement : on voit d'abord apparaître des

îlots de mousse. Puis l'acide carbonique qui se dégage entraîne avec lui à la surface la levure de la profondeur. Là, les paquets de levure s'enchevêtrent et ne redescendent pas, de sorte que, si la fermentation se fait en cuve ouverte, la levure forme au-dessus du liquide un chapeau assez cohérent, analogue à celui de la vendange. Si la fermentation a lieu, comme dans les brasseries, en petits tonneaux, la levure sort par la bonde et se déverse en grande partie au dehors.

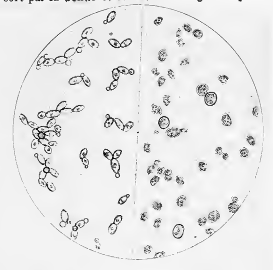


Fig. 60. — *Levure haute.*
Moitié gauche : Globules jeunes et turgescents.
— droite : Globules flétris et granuleux.

Cette propriété de monter à la surface, que la levure haute n'est pas seule à posséder, mais qui suffit à la différencier de la levure basse, se manifeste avec les plus petites quantités de liquide. Dans les expériences de laboratoire, un liquide où se produit une fermentation haute se reconnaît à ce que les parois du vase de verre portent collée à leur surface, jusqu'à une hauteur de 1 à 2 centimètres au-dessus du niveau du liquide, une couche ou de petits amas de levure, que la mousse avait soulevés et qu'elle a abandonnés en tombant.

La levure est alors réunie au fond du vase. Avec un peu d'expérience de ces matières, on s'aperçoit, et une expérience plus soignée confirme cette idée, qu'i s'en est formé proportionnellement plus, toutes choses égales d'ailleurs, qu'avec une autre levure quelconque. De plus, le dépôt est plus plastique qu'avec la levure basse, peut-être à cause des chapelets enchevêtrés qui se séparent assez difficilement, peut-être à cause d'une propriété inhérente aux globules même isolés. Toujours est-il qu'en agitant le dépôt de levure dans le liquide, on ne réussit qu'avec peine à le mettre à l'état de suspension homogène.

Enfin, la levure haute fournit une bière spéciale, ayant une saveur propre bien connue des consommateurs, et qui semble avoir été appréciée autrefois plus qu'elle ne l'est aujourd'hui, car les brasseries à fermentation haute disparaissent peu à peu, cédant la place à des brasseries à fermentation basse.

Tous ces caractères seraient bien suffisants; mais pour obéir aux règles que nous avons posées au commencement du chapitre qui précède, nous avons un dernier critérium à employer.

Nous avons vu, à propos du Saccharomyces Pastorianus, qu'on pouvait modifier le mode de bourgeonnement de la levure de fermentation, et lui donner des formes allongées, en l'épuisant dans de l'eau sucrée. Un traitement pareil, appliqué à la levure haute, conduirait-il à lui laisser son individualité, ou à la rapprocher d'une autre levure? L'expérience prouve qu'après une année entière de séjour sous l'eau sucrée, la levure haute n'a perdu aucun de ses caractères, et que son mode de bourgeonnement en paquets rameux et multiples reparaît comme au premier jour. Nous sommes donc autorisés à en faire une levure spéciale.

Levure basse. — La levure haute est employée dans les brasseries à des températures variant entre 16 et 20°. La levure basse n'est jamais utilisée à plus de 10° C., et on préfère la faire agir au voisinage de 5 à 6°. Ce n'est pas là un caprice de fabrication. La pratique a enseigné à fournir à chaque levure ses conditions les plus favorables. On élèverait la température d'une fermentation basse qu'on ne donnerait pas à la bière qui en provient le goût de bière haute, et inversement on pourrait faire agir la levure haute vers 5 ou 6°, sans lui faire fournir de la bière basse: à une double condition pourtant, c'est que les deux levures employées soient pures toutes deux. Si elles sont mélangées, le changement dans les conditions de développement donnerait le pas à l'une ou à l'autre, et porterait à croire à une transformation qui en réalité ne se fait pas.

Mais ce n'est pas seulement par le caractère de leurs bières que les deux le-

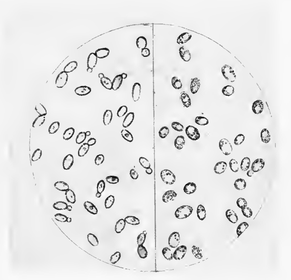


Fig. 61. — *Levure basse.*

Moitié gauche : Globules jeunes pendant la fermentation.
— droite : Globules vieillis et granuleux, après la fermentation terminée.

vures diffèrent. La levure basse est un peu plus petite, un peu plus oblongue que la levure haute. Lorsqu'on la fait bourgeonner en liquide aéré et sucré, les globules nouveaux se détachent du globule mère presque aussitôt qu'ils en ont atteint la grosseur. On ne les voit donc guère accouplés que deux par deux, fig. 61, ou rarement par quatre; et, à la fin de la fermentation, lorsque le bourgeonnement a cessé, ils sont tous ou presque tous isolés.

L'épuisement dans l'eau sucrée ne change rien à ce mode de bourgeonnement, tout au plus amène-t-il de petites différences dans le volume des cellules.

Enfin, la levure basse, à quelque température qu'on la fasse agir, reste au fond du vase, même pendant la fermentation tumultueuse qui se produit à l'origine. Elle ne se colle pas aux parois, et son poids est toujours moindre que celui de la levure haute pour une même quantité de liquide, bien que supérieur à ce que serait le poids du Saccharomyces Pastorianus.

Nous verrons, dans le chapitre suivant, qu'à ces différences de formes et de propriétés viennent se joindre des différences de composition chimique. Mais nous en avons dit assez pour pouvoir distinguer l'une de l'autre ces deux levures principales de l'industrie de la bière.

« D'où proviennent ces deux levures? se demande M. Pasteur, page 185 de l'ouvrage sur la bière que nous avons si souvent cité, quel a été leur premier germe? Je ne saurais le dire. Il ne m'est jamais arrivé, en exposant du moût de bière à la fermentation spontanée, d'obtenir isolément, soit la levure haute, soit la levure basse proprement dites, et je ne les ai pas davantage obtenues, avec leurs caractères industriels, à l'aide des levures de fruits. Je suis très porté à croire que nous avons ici un exemple nouveau de ces modifications de plantes ou de races d'animaux, devenues héréditaires par une domestication prolongée. On ne connaît pas le blé à l'état sauvage, on ne sait quelle a été sa première graine. On ne connaît pas non plus le ver à soie à l'état sauvage, on ignore la race qui en a fourni le premier œuf. »

Quoi qu'il en soit, ces deux levures sont en général assez bien séparées l'une de l'autre dans les opérations industrielles. Les brasseries emploient l'une ou l'autre, les distilleries se servent surtout de levure haute. Les levures pressées du commerce, celles d'Alsace, celles de Hollande sont aussi des levures hautes. Toutes ces levures sont de marques plus ou moins estimées. La régularité dans les conditions de fabrication leur maintient des qualités moyennes à peu près constantes. Mais si on se rapporte à ce que nous avons dit, à la fin du chapitre précédent, sur les variations de propriétés entre les cellules d'une même levure, on comprendra que même en partant d'une même semence initiale, une différence dans les conditions de fabrication peut conduire à des types différents qui eux-mêmes ne seront pas homogènes.

Nous allons trouver des arguments en faveur de cette manière de voir dans l'étude des deux levures suivantes.

Nouvelle levure haute. — M. Pasteur a donné ce nom à une levure, rencontrée fortuitement dans un moût de bière qui avait passé une nuit dans un bac refroidissoir, au libre contact de l'atmosphère d'un laboratoire où on

avait installé une petite brasserie expérimentale. Cette levure, purifiée, fournit une bière qui ne ressemblait à aucune bière connue. La levure es donc une levure spéciale, et cette conclusion est fortifiée par l'étude de ses caractères histologiques. Elle se distingue, en effet, de la bière basse, parce qu'elle monte à la surface du liquide, et y forme une couche de levure qui persiste après que la mousse est tombée. Elle lui ressemblerait par son aspect ovale, fig. 62, et la forme de son bourgeonnement qui n'est jamais rameux. Mais cela précisément la différencie de la levure haute. Elle se sépare enfin du Saccharomyces Pastorianus par ses formes plus régulières, par l'uniformité dans les dimensions de ses cellules.

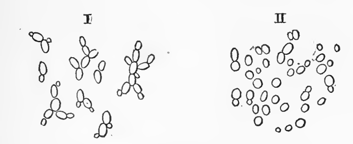


Fig. 62.
I. *Nouvelle levure haute, rajeunie au contact de l'air.*
II. *Sa levure aérobie.*

Elle a donc un caractère spécial. Nul doute pourtant qu'elle ne provienne d'une cellule existant probablement dans les levures dont on se servait, à ce moment, dans la brasserie expérimentale du laboratoire. M. Pasteur croit, en effet, qu'elle est au nombre des éléments constituants de la levure pressée que le colossal établissement de Maisons-Alfort livre en grande abondance au commerce.

Levure caséeuse. — C'est encore un hasard d'ensemencement qui a fait rencontrer cette levure, mais accompagné de circonstances sur lesquelles il est bon de dire un mot.

En essayant divers modes de purification pour les levures, M. Pasteur avait été conduit à composer un liquide, formé de six parties de moût de bière ordinaire, mélangé à quatre parties d'eau saturée de bitartrate de potasse pour rendre le moût un peu acide, et à une partie d'alcool à 90°. On ensemençait avec une levure ce moût placé dans un ballon à deux cols, et on chauffait le tout à 50° pendant une heure, après l'ensemencement.

En opérant ainsi avec de la levure haute de Hollande, on a rencontré une levure qui rappelle un peu, par sa forme allongée et rameuse, le Saccharomyces Pastorianus et les levures de Dematium, mais dont les articles ont un degré de réfringence, une fermeté de contours, un modelé que ne possède aucune autre levure, fig. 63. Elle présente, en outre, un caractère fort curieux, c'est une sorte de plasticité qui lui a fait donner son nom. Elle se délaye très difficilement dans l'eau, et n'y reste pas en suspension. Elle retombe de suite au fond, comme les

précipités caillebotés de chlorure d'argent, laissant presque limpide l'eau surnageante; sous la pression de la lamelle dont on la recouvre, quand on veut l'examiner au microscope, elle résiste, se laisse difficilement écraser, et revient

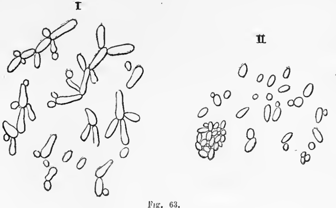


Fig. 63.
I. *Levure caséeuse, pendant la fermentation.*
II. *Son aérobie.*

sur elle-même quand on ne la comprime plus. Elle fournit une bière d'un goût spécial. Enfin, elle se perpétue avec ces caractères dans des cultures nouvelles, et ne reproduit pas la levure haute ordinaire, par exemple, celle de Hollande d'où elle est sortie.

On l'a rencontrée aussi dans une levure haute des Ardennes. Résulte-t-elle d'une modification de cette levure haute sous la triple influence de l'acidité du moût, de l'alcool qu'on y a mêlé et de la température de 50° à laquelle on l'a portée ? Cela n'est pas probable. Il est probable, au contraire, qu'elle existait à l'état de mélange dans cette levure, d'impureté passant inaperçue à cause de ses minimes proportions, et qu'elle n'est apparue que parce que la température de 50° l'a respectée en tuant sa congénère. Au moins est-il certain qu'elle résiste pendant une heure à cette température de 50°, tandis que de la levure haute périt complètement, à la condition pourtant qu'elle soit absolument pure. Une levure commerciale renfermant une trace de levure caséeuse étant ainsi chauffée, cette dernière doit rester seule. Peut-être, à raison de ses propriétés, trouverait-elle une application dans la fabrication des bières. M. Pasteur croit qu'elle joue un rôle dans la fabrication du *pale-ale* de *Burton on Trent*, dans les célèbres brasseries Bass et Alsopp.

Levures aérobies. — Nous n'en avons pas encore fini avec notre étude des levures commerciales, et de la grande variété de levures différentes qu'elles peuvent renfermer. Nous allons pouvoir trouver une doublure à chacune des levures précédentes, en nous mettant dans des conditions qui doivent se trouver réalisées souvent dans la grande industrie, de sorte que nous serons conduits à admettre aussi l'existence, dans les levures commerciales, de ces doublures, de ces levures aérobies comme les a appelées M. Pasteur.

Abandonnons, pour cela, à lui-même, du moût de bière pur, ayant fermenté dans un ballon à deux cols, au moyen de levure pure. Cette levure va, nous le savons, vieillir peu à peu dans le liquide, et traduira bientôt le travail intérieur dont elle est le siège par l'épaississement de ses contours et les granulations de son protoplasma. Mais une partie de ses cellules va se remettre à bourgeonner au contact de l'air, et viendra former, soit un voile mycodermique à la surface du liquide, soit une couronne sur la ligne de contact de cette surface avec les parois du ballon. Qu'on prenne une semence de ces cellules et qu'on les porte dans un ballon de moût, on verra bientôt la fermentation y apparaître; ces cellules sont donc de la levure, mais une levure qui vit en moisissure, absorbant l'oxygène, et brûlant avec lui les matières hydrocarbonées diverses qui existent toujours dans une liqueur fermentée.

Nous avons trouvé un exemple de cette forme aérobie de la levure dans la pellicule mycodermique de la mycolevure que nous avons étudiée plus haut. Mais ce qu'il y a d'intéressant, c'est que toutes les levures peuvent donner, dans les conditions que nous venons de faire connaître, leur levure moisissure particulière, reproduisant dans son bourgeonnement, quand elle sert à une fermentation, les formes de la levure d'origine, et ayant pourtant des qualités propres qui empêchent de la confondre avec elle. C'est ainsi que, dans la plupart des cas, la levure aérobie d'une levure basse se comporte comme une levure haute, montant à la surface des liquides. Elle donne une bière plus parfumée que la levure basse dont elle émane, et elle conserve ses qualités dans ses générations successives.

Toutes les levures aérobies ont naturellement des relations de forme avec les levures dont elles proviennent, mais elles ne leur ressemblent pas d'une façon absolue. Elles sont, en outre, assez distinctes les unes des autres, pour qu'on puisse souvent les reconnaître par l'aspect physique qu'elles revêtent à la surface des liquides.

L'aérobie du Saccharomyces Pastorianus forme une couronne à la surface des liquides contre les parois des vases et s'en détache à la moindre agitation. On y retrouve les tubes rameux, bourgeonnant à leurs points d'articulation, de la levure jeune, et aussi les cellules rondes et ovales de la levure à la fin d'une fermentation qu'elle a provoquée. Sa grande vitalité rappelle celle de la levure mère.

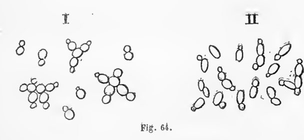


Fig. 64.

L'aérobie de la levure haute, fig. 64, I, apparaît en petits mamelons isolés à la surface du liquide fermenté. Elle est en cellules d'aspect sphérique, comme la levure haute ordinaire, et, comme elle, bourgeonne en paquets rameux. Son

développement est pénible et elle meurt assez vite, tandis que l'aérobie du Saccharomyces Pastorianus résiste pendant des années.

L'aérobie de la levure basse, fig. 64, II, rappelle cette levure par ses formes, ses dimensions et son mode de bourgeonnement. Toutefois, quand on la rajeunit après épuisement dans l'eau sucrée, ses premières générations sont formées de cellules un peu plus volumineuses que celles qui leur succèdent. Elle forme à la surface du liquide une couche très fragile, qui se disloque à la moindre agitation et tombe en pluie de petits fragments irréguliers, qui ne se délayent pas en tombant. Elle vit longtemps si l'air a un libre accès dans les vases.

L'aérobie de la levure caséeuse, fig. 63, II, a les formes allongées et pyriformes de la levure mère. Elle donne une pellicule continue, qui devient épaisse, prend un aspect gras et se déchire en fragments quand on l'agite. Elle vit très longtemps et s'épaissit de plus en plus sous l'influence de l'air.

L'aérobie de la nouvelle levure haute, fig. 62, II, forme une pellicule grasse et humide à la surface des bières que cette levure a fait fermenter.

On voit, par ce que nous venons de dire, que ces levures aérobies ont une existence indépendante de celles des levures mères, desquelles elles proviennent pourtant par une sorte d'accoutumance à la vie au contact de l'air. Tout démontre dans leur histoire qu'elles peuvent se former dans l'industrie, aux dépens de la levure la plus pure et la plus homogène, quand celle-ci reste exposée pendant quelque temps, par une circonstance quelconque, à la surface du liquide qui l'a nourrie, ou sur les parois du vase où se fait la fermentation. Toutes choses égales d'ailleurs, les levures pressées commerciales, fabriquées autant que possible au contact de l'air, doivent en renfermer davantage que les levures de brasseries, mais celles-ci n'en doivent pas être exemptes. Tout nous confirme donc dans la pensée que les levures de l'industrie sont des mélanges hétérogènes.

Il est vrai qu'en général ces levures aérobies passent inaperçues, parce qu'elles sont en faible quantité d'abord, vu le très court séjour à l'air des levures qui peuvent les produire, puis, parce que leurs formes ne permettent pas de les distinguer facilement des levures ferments. C'est par leurs propriétés qu'elles en diffèrent surtout, et on comprend bien pourquoi elles n'avaient jamais été signalées. C'est qu'avant M. Pasteur, on n'avait jamais réussi ni à obtenir de la levure pure, ni à laisser celle-ci un temps suffisant au contact de l'air, sans y voir apparaître des productions de toute nature. Le développement de celles-ci a toujours masqué ou empêché le développement des levures aérobies. Nouvelle preuve de l'importance et de la fécondité des procédés de culture inaugurés par M. Pasteur.

Autres levures. — Les levures que nous venons de décrire ne sont pas les seules connues. Il en existe certainement un très grand nombre d'autres qu'on n'a pas encore soumises à l'étude méthodique et sûre dont nous avons parlé plus haut, et dont la spécification est par suite incertaine. Par suite d'une ironie singulière de la science, ces levures sont précisément celles que les classifications existantes ont revêtues des noms les plus précis. Ces classifications ne connaissent ni la levure haute, ni la levure basse, mais elles possèdent, depuis

Meyen, le *saccharomyces cerevisiœ* qui les comprend toutes deux. Quel que soit le mérite des savants qui les ont faites, tout y est à reprendre. Le nom générique de *Saccharomyces* lui-même semble mal choisi; car à côté des levures, toutes les analogies conduisent et ont conduit à mettre le *mycoderma vini*, qui n'a aucune des fonctions des levures, et préfère d'une façon évidente les liquides qui ne sont pas sucrés.

Sous le bénéfice de ces réserves, nous allons résumer ici la mieux faite de ces classifications, celle de Reess, avec les modifications que divers savants ont cru devoir y introduire. Les espèces qu'on peut admettre dans le genre saccharomyces sont au nombre de sept, savoir :

1. *Saccharomyces cerevisiœ.* (Meyen). — Cellules rondes ou ovales, ayant 8 à 9$^{\mu}$ dans leur plus grand diamètre, donnant par bourgeonnement des chapelets ou des globules isolés. Asques de 11 à 14$^{\mu}$ de diamètre, contenant 3 ou 4 spores de 4 à 5$^{\mu}$.

Nous avons dit plus haut que, sous ce nom unique, on confond deux levures très différentes : la levure haute et la levure basse. Cependant Reess n'avait pas réussi à obtenir la sporulation des cellules elliptiques de la levure haute, quand il les portait sur des tranches de carottes. Il n'avait que des développements filiformes. Il fallait, pour obtenir la formation d'asques, les cultiver longtemps à basse température.

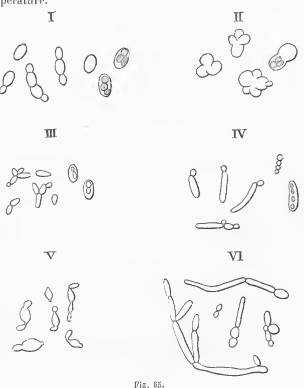


Fig. 65.

2. *Saccharomyces ellipsoideus*, fig. 65 (I). — Cellules ellipsoïdales, ayant en

moyenne 6^{μ} dans leur plus grand diamètre, donnant de courts chapelets lorsque la végétation est active, et se séparant bientôt quand la végétation est lente.

Le plus souvent 3 spores dans l'asque, mais quelquefois 4, ayant en moyenne 3 à $3,5^{\mu}$.

C'est le ferment principal de la fermentation du vin. Là nous paraît être le caractère distinctif de cette levure, plutôt que dans des distinctions un peu subtiles de forme ou de grandeur. M. Pasteur a constaté que de la bière, fermentée avec la levure de vin, prenait un goût vineux très prononcé. Nous retrouverons cette levure quand nous parlerons du vin.

3. *Saccharomyces conglomeratus* (II). — Cellules sphéroïdales de 5 à 6^{μ}, bourgeonnant irrégulièrement et restant agglomérées en pelotons. Les asques sont très souvent garnis de deux spores de 2 à 3^{μ}.

Le caractère ferment de cette espèce est douteux, d'après Reess. Rencontrée dans les raisins pourris, dans le vin au commencement de la fermentation et aussi dans la levure de bière.

4. *Saccharomyces exiguus* (III). — Très petites cellules, en forme de quille ou de sabot, de 5^{μ} de longueur sur $2,5^{\mu}$ à leur gros bout. 2 ou 3 spores dans l'asque.

C'est, d'après Reess, le ferment actif de la *fermentation consécutive* de la bière.

5. *Saccharomyces Pastorianus.* — Cellules ovales, pyriformes, ou allongées en massues, pouvant arriver à $18-22^{\mu}$, donnant 2 à 4 spores de 2^{μ} de diamètre, se formant de préférence dans le gros bout de la massue.

C'est l'espèce que nous avons rencontrée plus haut, et que Reess suppose, à tort, dénuée de diastase inversive.

6. *Saccharomyces Reessii* (IV). — Espèce nouvelle introduite par M. Blankenhorn, et ainsi caractérisée : cellules cylindriques pouvant atteindre 20^{μ} de longueur, poussant, aux extrémités, des bourgeons qui peuvent rester elliptiques, ou s'allonger en bâtonnets, en restant, ou non, unis au globule mère. 4 spores rangées en ligne, de 3 à 4^{μ} de diamètre. Se rencontre surtout dans le vin en fermentation.

7. *Saccharomyces apiculatus* (V), ou mieux, *Carpozyma apiculatum*, au dire de M. Engel, qui a découvert dans cette espèce, que Reess n'avait pas vue donner de spores, un mode de fructification qui la rapproche des protomycètes.

Quoi qu'il en soit, cette espèce paraît mieux caractérisée qu'aucune de celles qui précèdent. Elle se présente sous la forme de cellules en formes de citron, terminées à leurs deux pôles par deux mamelons saillants, d'où sortent des bourgeons qui se placent souvent à angle droit sur le globule initial. La longueur est de 6 à 8^{μ}, la largeur de 2 à 3^{μ}. On rencontre fréquemment cette levure à la surface des fruits, et dans la fermentation lente des vins en tonneaux. Presque toutes les fermentations de moût de fruit sont provoquées par lui. Elle a été décrite et figurée, pour la première fois, par M. Pasteur.

Pour compléter les énumérations des espèces du genre saccharomyces, nous devrions ajouter le saccharomyces mycoderma ; mais nous avons dit qu'il n'avait aucune des propriétés des levures, et il trouvera plus naturellement sa place ailleurs.

A ces levures il faudrait joindre encore :

1° Une levure membraneuse, fig. 65 (VI), découverte par M. Boutroux à la

surface des grains de cassis, et qui a la propriété de former, à la surface du liquide où elle vit, un voile blanc épais, ridé, grimpant le long des parois. Elle est très irrégulière de forme et de contours, se présente sous la forme de bâtonnets rappelant le Saccharomyces Reessii, et de globules elliptiques. Son existence témoigne, une fois de plus, du peu d'importance qu'il faut ajouter aux questions de forme, sur lesquelles on a jusqu'ici basé toutes les classifications.

2° Une levure découverte et étudiée par M. Roux, qui diffère de toutes celles que nous venons d'apprendre à connaître, par ce fait qu'elle ne secrète pas de ferment inversif, et ne peut vivre, par conséquent, dans un liquide sucré par le sucre cristallisable. Mais elle produit des fermentations complètes dans des solutions de glucose ou de sucre interverti, et elle conserve son caractère ferment pendant une longue série de générations successives, sans passer par l'état de moisissure. C'est en cela qu'elle se distingue des cellules de *mucor circinelloïdes* ou de *mucor spinosus*, que nous avons étudiées au chapitre XIX, qui font aussi fermenter le glucose, et restent sans action sur le sucre cristallisable, mais qui ne sont ferment que par occasion, lorsqu'on leur offre de certaines conditions d'existence. Ici, au contraire, nous avons une cellule ferment ne sécrétant pas de ferment inversif, ayant les formes de la levure ordinaire, ne différant de celle-ci que par sa forme plus arrondie et ses dimensions plus petites, car le diamètre de ces cellules ne dépasse $4{,}5^{\mu}$. Son caractère de levure ne saurait donc être méconnu, et M. Roux aurait pu lui donner un nom spécial avec toute justice, s'il avait été démontré que c'est la seule levure jouissant de cet ensemble de propriétés.

Toutes ces notions diverses, encore mal établies pour la plupart, mais qui sont autant de pierres d'attente pour l'avenir, témoignent que la question de la multiplicité et de la spécification des levures est beaucoup plus complexe qu'on ne serait tenté de le croire au premier abord. Elles justifient la réserve que nous avons cru devoir garder dans ce chapitre, au sujet de la dénomination à attribuer même aux levures que nous connaissons le mieux, et que nous avons laissées avec leurs noms provisoires, pour ne créer aucune illusion sur le caractère essentiellement provisoire et contingent des connaissances à leur sujet.

BIBLIOGRAPHIE

Persoon. — *Mycologia Europæa*, I. 96.

Meyen. — *Wiegmann's archiven*, 4ᵉ année, 2ᵉ vol., et *Pflanzen physiologie*, 3ᵉ vol., p. 455

Pasteur. — Quelques faits nouveaux au sujet des levures alcooliques. *Bulletin de la Société chimique de Paris*, 1862.

— Maladies des vins. *Comptes rendus*, t. LVIII, p. 144.

De Seynes. — *Comptes rendus*, t. LXVII, 1868.

Reess. — *Bot. Untersuch. uber die alkoolgährungs Pilze*, Leipzig, 1870.

Engel. — *Des ferments alcooliques*, thèse, Paris, 1872.

Blankenhorn. — *Untersuchung uber den Einfluss der Temperatur auf die Gahrung. Annalen der œnologie*, t. III. p. 9.

G. David. — *Uber Rothweingahrungs Pilze. Ann. der œnol.*, t. IV, p. 223.

Pasteur. — *Études sur la bière*, Paris, Gauthier-Villars, 1876.

Boutroux. — Sur l'habitat et la conservation des levures spontanées. *Bull. de la Soc. Linnéenne de Normandie*, 3ᵉ série, t. VI.

Roux. — Sur une levure cellulaire qui ne sécrète pas de ferment inversif. *Bulletin de la Société chimique*. 1881, t. XXXV, p. 371.

CHAPITRE XXVI

COMPOSITION CHIMIQUE DE LA LEVURE

L'étude de la composition chimique de la levure a de beaucoup précédé celle de ses propriétés comme être vivant, et elle présentait autrefois un intérêt qui lui fait un peu défaut aujourd'hui. Lorsqu'on l'envisageait comme une sorte de précipité chimique, ou de ferment inanimé agissant par contact, ou bien encore lorsque, comme Liebig, on l'assimilait à une matière organique en voie de décomposition, entraînant la destruction du sucre, la connaissance de sa constitution chimique pouvait avoir de l'importance. Il faut, par exemple, savoir gré à Kunckel d'avoir montré que, lorsqu'on la décomposait par la chaleur, elle fournissait du sel volatil d'ammoniaque. Fabroni de son côté, en 1799, a mis au jour un fait intéressant et établi une analogie précieuse, quand il a montré que sa composition permettait de la rapprocher du gluten. Quelques analyses que nous rencontrerons plus loin, faites dans cet ordre d'idées, peuvent encore être consultées utilement de nos jours.

Il n'en est pas moins vrai que toutes les notions que peut fournir l'analyse chimique sont devenues un peu insignifiantes depuis qu'on sait que la levure est un ensemble d'êtres vivants, en voie de mutation continue, qui non seulement ne sont pas les mêmes au commencement et à la fin d'une fermentation, mais qui encore, laissés sans aliment, changent d'un jour à l'autre.

Aussi les dernières analyses en date qu'on trouvera dans les tableaux suivants ont-elles été dirigées en vue d'un but déterminé qu'elles pouvaient permettre d'atteindre. En soumettant, par exemple, aux mêmes procédés d'analyse une levure basse et une levure haute d'une même brasserie, on pouvait espérer découvrir entre elles une différence de constitution, mettant en lumière une différence d'espèce. Ce que nous savons déjà nous fait penser que ce but était un peu chimérique, lorsqu'on se borne à l'examen de deux échantillons. Il aurait fallu en analyser plusieurs pour se mettre à l'abri des variations que peut présenter la composition d'un échantillon déterminé, et l'eût-on fait, qu'on aurait eu grande chance d'arriver à des résultats moyens tout à fait comparables.

Toutefois, quelles que soient les réserves faites sur la signification des diverses analyses élémentaires publiées jusqu'ici, elles n'en méritent pas moins

de rester dans la science, comme des documents utiles, et c'est à ce titre que nous allons les insérer ici.

Analyse élémentaire. — Voici d'abord l'analyse élémentaire de quelques levures. La composition indiquée est rapportée à la matière desséchée à 100°, et privée de cendres.

	Levure haute.					Levure basse.	
	I	II	III	IV	V	VI	VII
Carbone	50,05	47,0	50,08	50,6	45,5	47,93	52,5
Hydrogène	6,52	6,6	7,16	7,3	6,2	6,69	7,2
Azote	11,84	10,0	11,08	15,0	9,4	9,77	9,7
Oxygène et soufre	31,59	36,4	30,98	27,1	38,9	35,61	30,6
	100,00	100,0	100,00	100,0	100,0	100,00	100,0

I et VI d'après Schlossberger,
II d'après Mitscherlich,
III d'après Mulder,
IV d'après M. Dumas,
V et VII d'après R. V. Wagner.

La dernière ligne des analyses porte, comme rubrique, oxygène et soufre, bien que, dans les travaux originaux, le soufre n'ait pas partout été visé. C'est qu'il y a toujours du soufre dans la levure. Voici les chiffres que donne Liebig :

	Levure basse.
Carbone	34,56
Azote	7,41
Soufre	0,685

Analyse immédiate. — Plus intéressants sont les résultats de l'analyse immédiate qui sépare, aussi bien que possible, les divers tissus qui constituent le globule de levure.

Procédé de Schlossberger. — Schlossberger, auquel on doit un bon travail sur la question, commence par traiter la levure par une solution de potasse, qu'on doit prendre très étendue. Encore ne réussit-on pas toujours à éviter la formation d'une petite quantité d'ammoniaque, la matière azotée de la levure paraissant plus facile à décomposer que ses congénères.

Le liquide alcalin prend une couleur jaune clair. Il est précipité en flocons par tous les acides, qui développent, en outre, une odeur très sensible d'hydrogène sulfuré. Seul, l'acide acétique redissout le précipité formé, quand on en ajoute un excès. Ce précipité, floconneux et blanc à l'état humide, se laisse difficilement laver, et prend, en se desséchant, la consistance et l'aspect de la corne. Redissous dans l'acide acétique, il en est précipité par le cyanure jaune et le cyanure rouge. L'acide chlorhydrique concentré le colore de suite en violet, puis en bleu. Son caractère de matière albuminoïde n'est donc pas douteux

Quand on lave pendant huit jours, à grande eau, le précipité obtenu par l'acide sulfurique, on peut enlever tout l'acide. La substance, desséchée à 100°,

est alors jaune de succin, sa poudre chauffée s'électrise très facilement. Elle brûle sans résidu, avec l'odeur de la corne. Son analyse élémentaire a donné les nombres suivants :

Carbone	55,53	55,53
Hydrogène	7,50	7,50
Azote	14,01	13,75
Oxygène	22,96	23,22
	100,00	100,00

Cette composition n'est pas exactement celle des matières albuminoïdes. Schlossberger, qui n'y trouve pas non plus celle de la protéine de Mulder, la compare à une variété de caséine rencontrée par ce savant dans le lait de beurre; mais ces comparaisons sont sans intérêt. Nous verrons bientôt que Schlossberger n'avait pas isolé la matière azotée telle qu'elle existe dans la levure; et tout ce qu'il nous importe de savoir, pour le moment, c'est que les flocons que les acides précipitent dans la dissolution alcaline, sont notablement plus azotés que la levure entière, et se rapprochent des matières albuminoïdes.

La dissolution alcaline, après précipitation par les acides, demeure colorée en jaune, et donne, après évaporation et séparation du sel alcalin, un extrait jaune brunâtre, en trop petite quantité pour qu'on ait pu en étudier la nature. Schlossberger a raison d'y voir un résultat de la décomposition des matières protéiques de la levure par la fermentation ou par l'action de la potasse. Nous verrons bientôt que ces deux actions concourent à le prodnire.

Revenons maintenant au résidu du traitement de la levure par la potasse. Ses caractères le rapprochent de la cellulose végétale. Il résiste énergiquement aux réactifs les plus puissants. La potasse concentrée l'attaque à peine. Les acides minéraux concentrés, seuls, le détruisent, à l'exception pourtant de l'acide chlorhydrique. L'acide acétique est sans action sur lui, ou du moins ne fait que le ratatiner, au fur et à mesure qu'il le pénètre par endosmose.

Il est très difficile de débarrasser ce résidu des dernières traces de matières protéiques. On a pu pourtant l'amener à ne renfermer que 1/2 p. 100 d'azote. Après l'avoir soumis pendant huit jours à l'action d'une solution de potasse sans cesse renouvelée, et l'avoir lavé d'abord à l'acide acétique, puis à l'eau, jusqu'au moment où le liquide de lavage ne laissait plus de résidu, on arrivait à une masse d'un blanc sale, où le microscope permettait d'apercevoir les parois des cellules de levure, se colorant en jaune par l'iode, sans trace d'aucune teinte bleue. Le tout desséché donnait une matière jaune clair, très difficile à pulvériser, et brûlait sans odeur ammoniacale, en laissant comme résidu environ 1 p. 100 de cendres.

Son analyse élémentaire a donné les nombres suivants :

Carbone	45,45	45.09
Hydrogène	6,87	6,60
Oxygène	47,68	48,31
	100,00	100,00

C'est une composition que Schlossberger compare à celle de la cellulose des

lichens, pour laquelle Heldt et Rochleder avaient trouvé, comme moyenne de cinq analyses :

Carbone	46,08
Hydrogène	6,67
Oxygène	47,25

La ressemblance est encore très grande avec la composition de la cellulose de certains champignons ligneux, dans lesquels MM. Schlossberger et Doepping ont trouvé entre 45,0 et 45,5 p. 100 de carbone. Du reste, comme il est difficile de séparer complètement la matière albuminoïde de la levure, le carbone se trouve évalué un peu trop haut, et en le réduisant un peu, de 1 p. 100 environ, on retombe sur la composition de la cellulose ordinaire.

Ce qui justifie l'analogie que nous venons d'établir, c'est que la membrane des cellules de levure, telle que nous venons de la préparer, traitée plusieurs jours par de l'acide sulfurique étendu, se dissout en partie, et se transforme en sucre qui réduit le réactif de Fehling, et fermente sous l'action de la levure de bière « et c'est ainsi, dit Schlossberger en terminant son mémoire, qu'on peut réaliser ce résultat, en apparence paradoxal, de préparer du sucre aux dépens de la levure de bière qui fait fermenter cette substance. »

Ce travail de Schlossberger démontre donc avec netteté la présence, dans la levure, d'une enveloppe formée d'une matière analogue à la cellulose, et d'un contenu ressemblant aux matières azotées. Nous allons voir que la science a depuis renchéri sur ces premières indications, et qu'on a été conduit à distinguer plusieurs espèces de cellulose, et plusieurs genres de matériaux azotés.

Celluloses de la levure. — Liebig a le premier distingué la cellulose de la levure de ce qu'il appelle la cellulose normale, en montrant que la première n'était pas soluble dans l'oxyde de cuivre ammoniacal.

De nouvelles raisons de ne pas croire que la cellulose soit une matière toujours identique à elle-même viennent de ce que la levure n'en contient pas toujours la même quantité.

Payen a, par exemple, trouvé pour une levure la composition suivante :

Matière azotée	62,73
Cellulose	22,37
Graisse	2,10
Matière minérale	5,80
	100,00

Dans une autre analyse, la proportion de cellulose s'est élevée à 29,4 p. 100.

D'un autre côté, M. Pasteur, en employant à peu près les mêmes procédés que Schlossberger, n'a trouvé que 17,8 à 19,2 p. 100 de cellulose; Liebig, que 12 à 14 p. 100.

Des chiffres aussi différents témoignent que tout ce qui était cellulose pour quelques-uns de ces savants ne l'était pas pour les autres, et il y a lieu de se demander les causes de ce fait.

Elles ont été mises assez nettement en lumière, dans un travail de M. Nægeli

qui, au lieu d'employer l'action de la potasse pour séparer le contenu de la cellule de son enveloppe, a mis en œuvre deux modes d'extraction nouveaux.

L'un d'eux consiste à abandonner la levure sous l'eau dans des conditions que nous aurons bientôt à apprécier, en parlant de l'épuisement de la levure. Il nous paraît défectueux, à la fois au point de vue pratique et au point de vue théorique. Pratiquement, l'expérience montre que, dans ces conditions, le globule de levure semble se vider, ou du moins que son enveloppe se sépare du contenu, qui se réduit beaucoup et occupe un plus petit volume, mais il y reste encore, même après plusieurs mois d'épuisement, un ou plusieurs granules fortement réfringents, dont le poids total n'est certainement pas négligeable vis-à-vis de celui de la cellule. Ce n'est donc qu'une portion de la matière intérieure qui se dissout dans le liquide ambiant. Théoriquement, nous verrons que le phénomène ne peut pas se réduire à un simple phénomène d'exosmose du contenu. Il y a vie de la levure dans ces conditions, autophagie, et, par suite, désassimilation, de sorte que rien n'autorise à croire que les matériaux qui entrent en solution sont tels qu'ils étaient dans le globule initial.

Le second procédé mis en œuvre par M. Nægeli prend bien la levure sous son état actuel, et consiste à la faire bouillir à plusieurs reprises avec de l'eau. Dans une expérience, on a soumis de la levure à onze épuisements successifs, prolongés pendant une durée de vingt jours en tout.

Les cellules ainsi traitées ont abandonné à l'eau environ la moitié de leur substance sèche. L'élément principal de la portion dissoute, et qui constitue environ 37 p. 100 du poids sec de la levure à fermentation basse, est une sorte de mucilage végétal analogue à celui des champignons et des lichens. Il est soluble dans l'eau chaude. Il s'en précipite par refroidissement en sphérules microscopiques, de grandeur très inégale, moins réfringentes que l'eau et uniréfringentes au microscope polarisant. L'iode les colore en rouge brun, tandis qu'il ne colore pas la membrane cellulaire du globule. Il se comporte avec elles comme avec la modification incolore de l'enveloppe extérieure du grain d'amidon, qu'il ne colore qu'après qu'elle s'est désagrégée et transformée en dextrine.

Ces globules colorés par l'iode n'ont pas changé de nature ; ils se dissolvent, comme les globules normaux, dans l'eau chaude, et dans l'eau froide additionnée d'un peu d'acide ou d'un sel acide, comme la crème de tartre. La solution ne précipite pas par l'acide tannique, ce qui la distingue de la solution d'amidon. Elle ne précipite pas non plus par le borax, ce qui la distingue de la solution de gomme arabique. L'acide nitrique la transforme d'abord en acide sirupeux (acide saccharique), puis en acide oxalique.

Elle se rapproche de la dextrane trouvée dans les betteraves à sucre. L'une et l'autre donnent, avec la solution alcaline de cuivre, un précipité caséeux bleu clair; mais la dextrane est précipitée par l'acétate de plomb, tandis que le mucilage de levure ne se précipite qu'autant qu'on ajoute de la potasse.

Ce mucilage est donc en quelque sorte un produit intermédiaire entre la dextrine et les gommes. On le retrouve dans l'eau d'épuisement de la levure, obtenue par le premier procédé de M. Nægeli, et on a dès lors le droit de l'assimiler à la matière gommeuse que M. Béchamp d'abord, M. Schutzenberger ensuite ont rencontrée dans de l'extrait de levure spontanément altérée.

D'où provient ce mucilage? Très probablement de l'enveloppe de la levure. Dans un travail antérieur, M. Nægeli avait été conduit à envisager l'amidon comme formé d'une série de couches successives présentant toute une série de modifications chimiques et physiques graduelles, depuis les plus intérieures, qui se rapprochent de la dextrine, ou même du sucre, jusqu'aux plus extérieures, qui sont formées d'une véritable cellulose. Il pense qu'il se produit un fait analogue dans l'enveloppe celluleuse du globule de levure, et qu'il y a, là aussi, une série de membranes cellulaires plus ou moins attaquables par l'eau chaude qui commence par dissoudre les moins résistantes, puis s'attaque à celles qui le sont plus, et cela d'une façon presque indéfinie. En faisant bouillir la levure dans l'eau, pendant vingt jours, dans l'expérience qui a fourni les résultats énumérés ci-dessus, on a extrait du mucilage jusqu'à la fin, mais en quantités de plus en plus petites. M. Nægeli croit qu'en continuant l'ébullition avec de l'eau pendant un temps suffisant, on transformerait toute l'enveloppe en mucilage.

On peut tout de suite appliquer cette notion à l'explication des proportions différentes de cellulose dans les expériences de dosage que nous avons relatées plus haut. Les quantités de mucilage sont variables avec le mode et la durée du traitement qu'on a fait subir à la levure, et les quantités de cellulose doivent être inversement proportionnelles. Payen, qui trouve 29 p. 100 de cellulose, devait faire bouillir moins longtemps la levure avec sa solution de potasse, ou employer une solution moins concentrée que Liebig qui n'a trouvé que 14 p. 100 de cette même substance.

On peut donc admettre qu'il y a, dans l'enveloppe extérieure du globule de levure, de la cellulose à divers états d'agrégation. Nous verrons bientôt que ce fait n'est pas sans intérêt pour l'étude de la fermentation, et qu'il avait été pressenti par M. Pasteur. Nous pouvons dire tout de suite que d'autres faits, d'ordre chimique, nous autorisent à ne plus parler d'une cellulose unique, mais de diverses celluloses que nous verrons non seulement varier dans la même espèce, mais aussi d'une espèce à l'autre. La cellulose du *mycoderma aceti*, par exemple, est dissoute très facilement par l'oxyde de cuivre ammoniacal, et résiste fortement à l'action des acides. Celle de la levure est facilement attaquée par les acides, et ne se dissout pas, comme nous l'avons dit, dans l'ammoniure de cuivre. De l'une et de l'autre on peut retirer des mucilages dont les propriétés ne se ressemblent pas plus que celles de leurs générateurs. Nous verrons cette idée de l'existence d'un grand nombre de celluloses résulter de considérations purement physiologiques dans la suite de ce livre; mais il est intéressant de la rencontrer tout d'abord établie sur un terrain purement chimique.

Matières grasses de la levure. — La proportion de matière grasse qu'on trouvera inscrite plus haut dans l'analyse de Payen, et toutes celles qu'on a données jusqu'ici, semblent trop faibles. La matière grasse est très certainement enfermée à l'intérieur des cellules, dont les parois sont difficilement perméables à l'alcool ou à l'éther employés pour l'extraction. M. Nægeli a montré que lorsqu'on prend la précaution de détruire par l'acide chlorhydrique concentré les parois des cellules, avant de les traiter par l'éther, on obtient, sous forme d'acides gras, deux ou trois fois plus de graisse que dans l'ébullition avec

de l'éther. Une levure bien desséchée qui, après un traitement prolongé par l'éther bouillant, ne fournissait que 1,35 p. 100 de matière grasse liquide, donna 4,6 p. 100 d'un acide gras, qui, considéré comme de l'acide oléique, correspondait à 5,29 p. 100 de graisse.

Voici comment on traite la levure. Après en avoir bien desséché à 100° 2 ou 3 grammes, on l'évapore plusieurs fois au bain-marie avec de l'acide chlorhydrique concentré. La masse noire résultante est lavée sur le filtre avec de l'eau, puis chauffée avec de l'alcool absolu, et, après filtration, mise en digestion avec de l'éther. On réunit l'extrait alcoolique et l'extrait éthéré, et on les soumet à la distillation. On traite le résidu par le chloroforme, on filtre pour séparer une petite quantité de substance non dissoute et on distille le chloroforme dans un matras. De l'acide gras ainsi isolé, on conclut, par un calcul approximatif qui est suffisant, la proposition initiale de matière grasse.

Hoppe Seyler avait annoncé que l'éther prend à la levure non seulement de la matière grasse, mais encore de la cholestérine et de la lécithine. Des recherches de M. O. Lœw il résulte que cela est vrai pour la cholestérine, mais non pour la lécithine. On agite de la levure en bouillie avec deux fois són volume d'éther, et on obtient une masse, en bouillie aussi, d'où on ne peut séparer la couche éthérée qu'en ajoutant de l'alcool. Le liquide éthéré alcoolique, distillé avec précaution, ne donne ni directement, ni sous l'action du chlorure de platine, le précipité caractéristique de la lécithine, ni de son produit si caractéristique de dédoublement, la névrine. La matière grasse se séparant du liquide alcoolique après distillation de l'éther ne contient non plus aucune trace de combinaison organique phosphorée; mais, après saponification et agitation avec de l'éther, on peut en retirer de fines aiguilles, douées d'un éclat soyeux, et présentant toutes les réactions de la cholestérine. Sa quantité correspondait à 0,06 p. 100 de la levure sèche.

Matières azotées de la levure. — Lorsqu'on déduit de l'analyse élémentaire d'une levure, renfermant de 7,5 à 8 p. 100 d'azote, ce qu'il faut de carbone, d'hydrogène et d'oxygène pour faire 37 p. 100 de cellulose et 5 p. 100 de graisse, les nombres qui restent correspondent assez bien à la composition des albuminates. Le plasma des cellules doit donc être formé à peu près exclusivement de ces albuminates.

L'analyse chimique est en parfait accord avec cette conclusion, et va nous montrer en outre que ce contenu des cellules est encore de composition plus complexe que leur enveloppe. Une portion des matériaux azotés entre en solution dans le traitement à l'eau qui fournit le mucilage; mais quand on veut séparer les principaux, il vaut mieux se servir de l'alcool.

De la levure bien essorée, laissée deux jours avec son volume d'alcool à 95 p. 100, puis digérée à 60°-65°, et lavée ensuite à l'alcool à 60°, donne un liquide qui dépose, par refroidissement, un corps floconneux. On en obtient une quantité plus grande en évaporant l'alcool. Il forme environ 9 p. 100 du poids de la levure sèche.

Ce corps est peu soluble dans l'eau et l'alcool, et sa solubilité diminue encore par la dessiccation. Brûlé, il répand l'odeur de la corne. Il donne, du reste, les

réactions principales des substances albuminoïdes. Son caractère ne saurait donc être méconnu. Sa solubilité dans l'alcool chaud rappelle beaucoup la caséine de gluten que Ritthausen a découverte dans les céréales. Mais ce qu'il a de remarquable, c'est la facilité avec laquelle, même à froid et en solution très étendue, il dégage de l'hydrogène sulfuré au contact d'une solution de potasse à 1 ou 2 p. 100. Cette propriété nous explique l'observation de Schlossberger, que nous avons citée plus haut, sur la facile décomposition par la potasse de son extrait de levure. Elle permet de séparer complètement cette portion de matière albuminoïde, soluble dans l'alcool, de la partie principale des matériaux azotés de la levure, qui est beaucoup plus résistante à l'action des alcalis, et se rapproche de l'albumine d'œuf.

Dans le liquide qui a laissé déposer la matière dont nous venons de parler, on trouve diverses autres substances dont nous ne ferons que dire un mot, parce que nous les retrouverons plus tard quand nous étudierons les relations de la levure avec le liquide où elle vit. Ce sont :

1° Une matière extractive, très soluble dans l'eau et l'alcool, et dont une partie jouit des propriétés mal définies, du reste, des peptones;

2° De la leucine;

3° Une petite quantité de *sucre de raisin* avec toutes ses réactions caractéristiques;

4° Des corps appartenant au groupe de la xanthine;

5° Enfin un peu d'acide succinique et de glycérine.

Résultats généraux de l'analyse immédiate. — L'ensemble des résultats que nous venons d'énumérer peut se résumer dans la formule suivante :

Levure basse, à 8 p. 100 d'azote environ.

Cellulose avec mucilage végétal, formant la membrane cellulaire du globule		37
Matières protéïques.	*a.* A l'état d'albumine ordinaire	36
	b. A l'état de combinaisons phosphorées peu stables, analogues à la caséine de gluten	9
Peptones précipitables par l'acétate de plomb		2
Graisse		5
Cendres		7
Matières extractives		4
		100

M. Belohoubek a donné depuis les résultats d'une autre analyse conduite autrement, et coïncidant dans ses traits généraux avec la précédente.

Il a étudié une levure viennoise pressée, très fraîche, provenant d'une fabrique de levure. Voici ses nombres :

	Levure fraîche.	Levure desséchée.
Eau	68,02	»
Matières azotées	13,10	40,98
Matière grasse	0,90	2,80
Cellulose	1,75	5,47
Matière amylacée	14,10	44,10
Acides organiques	0,34	1,06
Matières minérales	1,77	5,54
Matières sableuses mêlées	0,02	0,05
	100,00	100,00

On reconnaît dans cette analyse l'influence de la transformation facile de la cellulose en matière amylacée mise en évidence par M. Nægeli. Mais il ne faudrait pas en conclure qu'il y a de l'amidon dans la levure. Ce que M. Belohoubek donne sous ce nom est un résultat du procédé opératoire qu'il a employé.

Matières minérales. — Nous arrivons enfin à l'étude des cendres, où nous allons retrouver des variations aussi grandes que dans toutes les analyses qui précèdent, parce que la diffusion fait toujours pénétrer dans le globule de la levure un peu de la matière minérale du milieu où il a été nourri. Mais la composition des cendres n'en offre pas moins quelques renseignements utiles, que nous retrouverons pour les féconder, quand nous étudierons l'alimentation minérale de notre petit végétal. Remarquons seulement, pour le moment, la prédominance de l'acide phosphorique, de la potasse et de la magnésie.

	I	II	III	IV	V
Acide phosphorique. . . .	46,9	53,9	53,4	44,7	48,5
Silice..	1,8	»	»	14,4	»
Potasse..	36,3	28,8	31,5	29,1	30,6
Soude.	0,2	1,9	0,8	2,4	»
Magnésie.	5,0	6,5	3,8	4,2	4,2
Chaux.	1,3	2,5	2,4	2,4	2,0
Chlore et soufre.	traces	6,4	5,0	traces	traces
Oxyde de fer et pertes. . .	4,1	7,3	2,7	2,1	»
	95,6	105,3	99,6	99,3	85,3

I. Levure haute, de fabrique viennoise, renfermant 8,1 p. 100 de cendres, d'après Payen.
II et III. Levures basses, d'après Béchamp.
IV et V. Levures basses, d'après Liebig.

Voici une comparaison entre une levure basse et une levure haute, d'après Mitscherlich :

	Levure haute.	Levure basse.
	—	—
Acide phosphorique.	53,9	59,4
Potasse..	39,1	28,3
Magnésie.	6,0	8,1
Chaux.	1,0	4,2
	100,0	100,0

La levure haute, desséchée à 100°, contenait 7,56 p. 100 de cendres; la levure basse, 7,51 p. 100.

Dans les analyses qui précèdent, tous les éléments n'ont pas été dosés. Voici une analyse beaucoup plus complète, faite par M. Belohoubek, sur les cendres obtenues par la calcination d'une levure pressée, la même que celle à laquelle se rapporte l'analyse immédiate citée plus haut :

	Cendres brutes.	Cendres pures.
	—	—
Acide phosphorique.	50,28	51,09
Acide sulfurique.	0,56	0,57
Acide carbonique.	0,41	»
Acide silicique.	1,58	1,60
Chlore.	0,03	0,03
Potasse.	38,07	38,68
Soude.	1,79	1,82
Magnésie.	4,09	4,16
Chaux.	1,96	1,99
Protoxyde de manganèse.	traces	traces
Oxyde de fer.	0,06	0,06
Charbon.	0,23	»
Sable.	0,91	»
	99,98	100,00

96,13 p. 100 de ces cendres étaient solubles dans l'eau.

BIBLIOGRAPHIE

Dumas. — *Traité de chimie.*

Schlossberger. — *Annalen der Chymie und Physik*, t. LXXX.

Pasteur. — *Comptes rendus*, t. XLVIII, p. 640, et *Ann. de ch. et de phys.*, t. LVIII.

Mitscherlich. — *Ann. der Ch. und Pharm.*, t. LVI.

Payen. — *Mémoires des savants étrangers*, t. IX, p. 32.

Hoppe Seyler. — *Uber die constitution des Eiters.* — *Med. chem. untersuchungen*, fasc. IV, p. 500.

Nægeli. — Sur la composition chimique de la levure. — *Sitzungsberichte der Math. Physik. classe der K. B. Akademie der Wissenschaften zu München*, 1878, fasc. 2.

CHAPITRE XXVII

NUTRITION MINÉRALE DE LA LEVURE

La levure est un végétal ordinaire, pouvant produire, dans certaines conditions déterminées d'existence, des phénomènes de fermentation. L'importance industrielle de ces phénomènes ne doit pas nous faire oublier qu'ils sont en quelque sorte un fait particulier de l'histoire physiologique du végétal levure, ni nous empêcher d'étudier cette plantule microscopique, comme nous l'avons fait de toutes celles que nous avons rencontrées jusqu'ici.

Nous allons donc rechercher quels sont ses besoins de nutrition. Il est facile de prévoir qu'elle exige trois sortes d'aliments : un aliment minéral, un aliment azoté et un aliment hydrocarboné. De ces trois aliments, le plus important, à cause de la part qu'il prend à la fermentation, à cause aussi de ses produits de transformation, est évidemment le dernier. Nous en rejetterons l'étude aux chapitres suivants, et nous allons, dans celui-ci, passer en revue ce que l'on sait sur l'alimentation minérale et azotée de la levuro.

Je dis de la levure, en employant ce mot dans le sens le plus général. Nous savons pourtant qu'il existe un grand nombre de levures, ct il est très certain que nous ne les connaissons pas toutes. Toutes ces levures si diverses ont probablement des besoins physiologiques et alimentaires différents. Nous avons déjà vu qu'elles ne s'accommodaient pas toutes de la même température, qu'elles donnaient aux liquides qu'elles produisaient des goûts spéciaux. Mais l'étude de leurs conditions de développement n'est pas faite. On ne la connaît un peu que pour les levures de bière, haute ou basse; car beaucoup d'expérimentateurs, croyant, comme les brasseurs, qu'elles étaient identiques, n'ont pas toujours dit sur laquelle ils opéraient; et les résultats un peu différents, trouvés par quelques-uns d'entre eux sur le même sujet, tiennent peut-être à la différence des levures employées. Toutefois, les écarts que peuvent présenter ces deux levures sont toujours faibles, et ce que nous allons dire s'appliquera indifféremment à l'une ou à l'autre.

Aliment minéral. — M. Pasteur a le premier mis en évidence le caractère indispensable de l'aliment minéral pour la nutrition de la levure et l'accomplissement de la fermentation, lorsqu'il a montré que la transformation

du sucre, qui se faisait régulièrement dans un milieu formé d'eau sucrée, d'un sel d'ammoniaque et de cendres de levure, devenait impossible lorsque dans ce milieu on supprimait seulement la matière minérale. Il a fait voir de plus que si on modifiait la nature des principes minéraux, si, par exemple, on enlevait les phosphates alcalins, la marche de la fermentation était très sensiblement modifiée et ralentie.

De même, le phosphate de magnésie employé seul ne donne pas les mêmes résultats que les cendres de levure brute. De même encore, des changements se manifestent lorsqu'on se sert de cendres de levure fondues au rouge blanc, ce qui a chassé en partie les alcalis, ou de cendres simplement frittées par une chaleur modérée, c'est-à-dire aussi voisines que possible de l'état dans lequel elles se trouvent dans les tissus de la levure.

M. Pasteur s'est borné à établir ces notions sans chercher à les approfondir. Il serait plus facile aujourd'hui qu'il ne l'était alors de combler cette lacune, en appliquant à la levure la méthode que nous avons vu employer par M. Raulin pour l'étude de l'*aspergillus niger*. Rappelons brièvement, pour l'intelligence de ce qui va suivre, en quoi elle consiste.

Elle exige tout d'abord que l'on recherche, par tâtonnement, quel est, pour l'espèce étudiée, le milieu type, c'est-à-dire le milieu minéral donnant d'une façon régulière, lorsqu'il est placé dans des conditions de température favorables, le poids de végétal le plus élevé d'abord, le plus constant ensuite. Cette double condition de constance et de maximum du rendement est capitale. Nous avons insisté beaucoup sur elle, et un peu de réflexion en montre l'indispensable nécessité.

Possédant alors la composition de ce milieu type, on y supprime successivement chacun des éléments qui le composent, et on mesure l'importance de l'élément soustrait par la diminution de récolte provoquée par cette soustraction.

Cette marche est la seule logique et la seule sûre. On ne saurait par exemple opérer d'une manière inverse, c'est-à-dire mesurer l'importance d'un aliment minéral par l'augmentation de poids vivant qu'il amène, lorsqu'on l'introduit dans un liquide privé tout d'abord de matière minérale. Dans un pareil liquide, en effet, toute végétation est forcément chétive, soumise à mille hasards et à mille caprices apparents. L'être qu'on y ensemence a mille chances d'être refoulé et détruit par une espèce moins difficile, s'accommodant mieux que lui des conditions pénibles d'existence qu'on lui offre. En ajoutant à ce liquide un seul des éléments minéraux dont il aurait besoin pour devenir vraiment nutritif, on ne l'améliore guère, et on court presque les mêmes chances de voir dévier le phénomène qu'on veut étudier, sous l'influence du développement d'un parasite. De plus, les deux actions que l'on compare se traduisant toutes deux par des chiffres très faibles, la plus petite cause d'erreur, la plus petite difficulté expérimentale, et on devine si elles doivent être fréquentes avec ces infiniment petits dont la physiologie est si peu connue, influent dans une proportion énorme sur le résultat. Ceci nous ramène à la nécessité d'un milieu type, donnant le rendement maximum.

Avec la levure il y a une difficulté de plus : quel est le rendement que l'on doit chercher à évaluer? En songeant à l'importance du rôle de ce végétal comme

ferment, on pourrait être tenté de conclure qu'il faut songer au rendement en acide carbonique dans un temps donné, rendement qui est proportionnel à l'activité de la fermentation ou de la levure. Mais nous savons que cette activité est sous la dépendance presque exclusive d'un élément qui, bien que de nature minérale, n'est pourtant pas d'ordinaire compté au nombre des aliments minéraux. Nous voulons parler de l'oxygène. Il faudrait alors, pour conclure, commencer par éliminer cette influence prépondérante, en maintenant constantes les conditions d'aération du liquide d'ensemencement, et même, comme nous l'avons vu, celle de la semence. On rencontrerait certainement à celà de grandes difficultés.

A défaut de cette voie, on peut essayer de traiter la cellule de levure comme un végétal ordinaire, et de trouver le critérium de ces expériences dans l'augmentation du poids vivant. Mais il y a encore à cela une difficulté de sens inverse à la précédente. L'air joue aussi, dans la multiplication des globules de levure, un rôle important, et qu'on ne peut méconnaître. Il faudrait donc assurer, pendant tout le temps de la multiplication, aux globules anciens et nouveaux le libre contact de ce gaz, de façon à exalter autant que possible la puissance végétative, et à rabaisser le pouvoir ferment. Cela exigerait encore un dispositif compliqué; mais, malgré tout, l'expérience paraît plus facilement réalisable sous cette dernière forme que sous la première.

Si on abandonne le terrain de la théorie, et si on se pose seulement ce problème, plus pratique, de savoir quels sont les sels minéraux qui favorisent la marche d'une fermentation ordinaire, on peut simplifier son manuel opératoire, mettre en train deux fermentations aussi identiques que possible, surtout au point de vue de leur degré d'aération, l'une avec, l'autre sans l'élément envisagé, et comparer la rapidité de leur marche; mais toujours on viendra se heurter à la nécessité de la création préliminaire du milieu type, donnant la fermentation la plus complète dans le temps le plus court.

Travaux de M. Mayer. — Tous ces développements nous permettent d'apprécier le travail le plus important publié jusqu'ici, sur la nutrition minérale de la levure. Il est de M. A. Mayer, et date de 1869. M. Pasteur avait déjà, à cette époque, établi l'influence de l'air sur la multiplication et le pouvoir ferment de la levure, mais ses expériences n'avaient pas frappé l'attention comme elles l'ont fait depuis, et M. Mayer néglige cette influence de l'air. Première cause d'incertitude dans ses résultats.

Il ne suit pas la méthode de M. Raulin, et se contente d'apprécier les effets qui résultent de l'introduction dans un milieu, privé d'éléments minéraux, de quelques sels isolés ou mélangés. Aucun des milieux qu'il constitue ainsi n'étant propre à un bon développement de levure, il reste exposé aux développements latéraux de parasites qui viennent masquer les résultats, et enlever toute signification à la plupart de ses expériences. On aurait pu éviter une partie de ces inconvénients, et améliorer un peu la méthode, soit en employant de la levure pure, soit en faisant chaque expérience en double, en triple ou en quadruple, de façon à éliminer autant que possible l'influence des cas particuliers. M. Mayer a négligé cette dernière précaution. Quant à l'emploi de la levure pure, il n'a pu

s'introduire dans les laboratoires qu'à la suite des travaux de M. Pasteur sur la bière, publiés en 1873.

Aussi, si on envisage chacun des résultats particuliers auxquels est arrivé M. Mayer, est-on exposé à trouver des faits un peu étranges. C'est ainsi, par exemple, que l'addition de phosphate de chaux à un milieu renfermant déjà du phosphate de potasse et du sulfate de magnésie paraît produire un effet nuisible sous une dose de 0gr,005 sur 20 centimètres cubes de liquide, un effet très favorable avec 0,010, et de nouveau un effet défavorable avec 0,030. Cela tient à ce que dans les deux cas où l'influence a été fâcheuse en apparence, il s'est développé du ferment lactique; mais on voit à quelles erreurs singulières est sujet ce mode d'investigation.

Pourtant, si on envisage, non pas le détail des expériences de M. Mayer, mais leur ensemble et comme le gros de ce travail, on peut en tirer certaines conclusions qui ne sont pas sans intérêt.

Ce qui en ressort tout d'abord, c'est l'influence prépondérante du phosphate de potasse. De tous les sels qui peuvent servir à la nutrition de la levure, c'est celui qui produit l'effet le plus marqué, soit qu'on l'ajoute seul à un liquide où il n'y a pas d'autre aliment minéral, soit qu'on l'ajoute à un mélange minéral incomplet, où manquent deux ou plusieurs éléments. On se rend facilement compte de cette prépondérance si on se rapporte à la composition des cendres de la levure donnée au chapitre précédent. On voit que le phosphate de potasse y est prédominant, et il est clair que la levure, en ayant pour ainsi dire *plus* besoin que de tout autre sel, doit accuser sa présence ou son absence par des phénomènes plus marqués.

Ainsi qu'on a le droit de s'y attendre, soit en vertu de ce que nous savons déjà, soit simplement en se rapportant à la composition des cendres de la levure, le phosphate de potasse ne peut être remplacé par du phosphate de soude ou du phosphate d'ammoniaque. La potasse joue un rôle individuel. Il est évident qu'il en est de même pour l'acide phosphorique.

Les sels de magnésie ne sont pas moins nécessaires. Viennent ensuite les sels de chaux. Ces deux bases ne peuvent pas se suppléer l'une l'autre. Toutefois, dans les essais de M. Mayer, la magnésie paraît être plus importante que la chaux, à tel point qu'on est amené à se demander si la chaux est bien nécessaire. Il faudrait, pour répondre à cette question, trouver un milieu duquel la chaux soit totalement absente, chose difficile; car soit par l'eau, soit par le sucre, elle s'introduit toujours quelque part à l'insu de l'observateur; et comme les cendres n'en contiennent que très peu, la moindre source alimentaire leur suffit.

Quoi qu'il en soit, le mélange salin qui a donné les meilleurs résultats, au point de vue de la fermentation, est formé de :

0gr,1 de phosphate de potasse ($KO, 2HO, PhO^5$),
0gr,1 de sulfate de magnésie ($MgO, SO^3 + 7HO$),
0gr,01 de phosphate de chaux ($3CaO, PhO^5$).

le tout pour 20 centimètres cubes de solution sucrée avec 15 p. 100 de sucre candi.

Ce mélange salin contient les éléments minéraux principaux de la levure à

peu près dans les mêmes proportions que celles qui résultent de la moyenne des analyses de Mitscherlich. On peut s'en convaincre, en comparant les deux colonnes du tableau qui suit, dont la première indique les quantités des divers éléments correspondant aux chiffres donnés plus haut pour le mélange nutritif, et dont la seconde donne les nombres moyens des analyses de Mitscherlich, rapportés à 100 de cendres.

	Mélange Mayer.	Mélange naturel.
	—	—
Acide phosphorique	0,056	56,7
Potasse	0,034	34,0
Magnésie	0,016	7,1
Chaux	0,005	2,6

Dans le mélange artificiel, on le voit, la magnésie et la chaux sont en léger excès. Mais cela n'a aucune importance.

Rôle du soufre. — L'analyse de Mitscherlich ne vise pas un élément important, bien qu'il ne soit jamais présent qu'en faibles quantités. Nous voulons parler du soufre. L'existence d'un végétal se passant de soufre pour ses besoins alimentaires impliquerait l'existence d'un protoplasma sans soufre aussi, et on n'en connaît point de pareil. Celui de la levure en particulier en renferme, et, dans des analyses plus soigneuses, on retrouve en effet, comme nous l'avons montré au chapitre précédent, le soufre au nombre des éléments minéraux de la levure.

A quoi l'emprunte-t-elle? Dans le mélange de M. Mayer, il y a bien de l'acide sulfurique qui pourrait à la rigueur le lui fournir; mais la levure ne semble pas pouvoir décomposer les sulfates. De plus, ce qui lève tous les doutes au sujet du rôle de cet acide, on peut obtenir une fermentation dans un liquide qui ne renferme que du sucre candi, du phosphate de potasse et du phosphate ammoniaco-magnésien.

Ce mélange ne renferme pas de soufre en apparence, et on pourrait se croire autorisé à conclure que la levure n'a pas besoin de ce corps. Cependant la calcination de la levure et celle du résidu d'évaporation du liquide ont toujours permis à M. Mayer d'y reconnaître des traces de soufre, même lorsqu'il préparait son phosphate de potasse avec de la potasse tout à fait pure et du phosphore exempt de soufre, et qu'il prenait tous les soins possibles pour éliminer le soufre de la très petite quantité de semence de levure qu'il employait.

Après avoir longtemps cherché d'où pouvait provenir le soufre qu'il trouvait à la fin des fermentations, il a fini par en découvrir l'origine dans le sucre candi. Le sucre candi le plus blanc en renferme toujours. On le prouve facilement par le procédé suivant : on pulvérise finement le sucre avec 1/5 de son poids de salpêtre pur; on calcine le tout dans une capsule de platine. On obtient ainsi des cendres, encore charbonneuses, formées surtout de carbonate de potasse, qu'on pulvérise encore avec de nouveau sucre, qu'on calcine à nouveau, et ainsi de suite, jusqu'à ce qu'on ait brûlé une certaine quantité de sucre, et obtenu assez de cendres pour y rechercher l'acide sulfurique. Le salpêtre ajouté au commencement, et qui passe bientôt à l'état de carbonate de potasse.

favorise la calcination et prévient toute perte de soufre. On sature à la fin par de l'acide chlorhydrique pur, et le liquide filtré donne toujours un louche avec le nitrate de baryte.

Dans un sucre très blanc, qui ne contenait que 0,06 p. 100 d'azote, proportion très inférieure à celle qu'on trouve d'ordinaire, M. Mayer a trouvé 0,006 p. 100 de soufre. La proportion est très faible et paraît au premier abord négligeable; mais si on songe qu'il ne se forme quelquefois pas plus de 1 gramme de levure dans la fermentation de 100 grammes de sucre, on voit que ce poids de levure a eu à sa disposition 6 milligrammes de soufre. C'est à peu près ce qu'il lui en faut, si on se rapporte aux analyses faites dans le laboratoire de Liebig.

Toutes les tentatives faites par M. Mayer pour préparer du sucre exempt de soufre ont échoué. Mais il ne semble pas douteux que si on arrivait à priver totalement de soufre une levure, elle ne se reproduirait pas.

On voit quelles difficultés on rencontre quand on veut étudier l'influence d'un élément minéral qui n'a besoin d'être présent qu'en proportions très faibles. Il en est pour la magnésie, et surtout la chaux, comme pour le soufre, bien qu'à un moindre degré, et les imperfections que nous avons dû relever dans le travail de M. Mayer s'expliquent aisément, si on songe combien était délicat le problème qu'il s'était proposé de résoudre.

BIBLIOGRAPHIE

Pasteur. — Mémoire sur la fermentation alcoolique. *Ann. de ch. et de phys.*, t. LVIII. 1859.
Ad. Mayer. — *Untersuchungen uber die alkoolische Gahrung*, Heidelberg, 1869.

CHAPITRE XXVIII

ALIMENTATION AZOTÉE DE LA LEVURE

La question des rapports de l'azote avec la levure a depuis longtemps excité les efforts et la sagacité des chimistes. On sait depuis Kunckel, dont nous avons rappelé plus haut l'observation, que la levure est azotée, et, à raison de ce fait, on l'a longtemps rapprochée des substances animales. Dans un mémoire sur les fermentations, couronné en 1787 par l'Académie de Florence et lu à la Société philomathique de Paris en 1799, un savant Italien, Fabroni, se rapproche davantage de la vérité, en assimilant la levure à une substance azotée, quoique de nature végétale, le gluten.

Ce mémoire commence l'ère des recherches. Un an après sa publication en France, l'Institut proposait comme sujet de prix la question suivante : Quels sont les caractères qui distinguent, dans les matières végétales et animales, celles qui servent de ferment de celles auxquelles elles font subir la fermentation? En essayant de répondre à cette question, Thénard se trouva conduit à préciser les rapports de l'azote avec la levure, et voici le résumé de ses observations sur ce sujet.

Il confirme d'abord l'ancienne observation qui avait fait voir dans la levure un corps riche en azote. Soumise en effet au seul procédé que l'on connût alors pour démontrer l'existence de ce corps, à la méthode de la distillation sèche, il constata qu'elle fournissait beaucoup d'ammoniaque.

Cette même levure, mise en contact avec du sucre, le faisait fermenter, et se déposait au fond du vase. En décantant le liquide et ajoutant de nouvelle solution sucrée, une nouvelle fermentation s'établissait, un peu plus lente que la première. En recommençant une seconde fois la même opération, on arrivait à une levure qui n'exerçait plus aucune action sur une nouvelle quantité d'eau sucrée. Le poids de ce résidu était à peu près moitié du poids initial. La levure avait donc disparu en partie, en se transformant en produits solubles. Ce qui en restait était une matière blanche, présentant les propriétés du ligneux, c'est-à-dire ne donnant plus d'ammoniaque quand on la soumettait à la distillation, et par conséquent, d'après les idées du temps, ne contenant plus d'azote.

Disons tout de suite que cette dernière conclusion est inexacte, et tient seulement à l'imperfection du procédé analytique mis en œuvre; mais en l'acceptant

comme vraie, Thénard se trouve conduit à se demander ce qu'est devenu l'azote disparu. Il le cherche d'abord dans le résidu du liquide fermenté soumis à l'évaporation, et ne l'y trouve pas, toujours pour la même raison que tout à l'heure. Il le recherche ensuite dans l'acide carbonique dégagé, mais, comme l'avait vu Lavoisier, ce gaz est complètement absorbable par la potasse. Qu'est donc devenu cet azote? Thénard ne trouve pas de réponse à cette question, et continue à la poser jusque dans les dernières éditions de son traité de chimie, bien qu'il connût l'existence d'une solution proposée par Döbereiner, et qui avait rencontré créance dans le monde savant.

Döbereiner avait écarté la difficulté soulevée par Thénard en annonçant que ce savant s'était trompé sur un point, et que le résidu soluble du liquide fermenté renfermait l'azote du ferment à l'état d'ammoniaque. Il le prouvait en distillant ce résidu avec des alcalis fixes, de la potasse ou de la soude. Il y avait. dans le travail de Döbereiner comme dans celui de Thénard, deux choses à séparer, le fait brut, expérimental, et la conclusion.

Le fait brut est exact, il y a en effet de l'azote dans le résidu; et si Döbereiner s'en fût tenu là, sa conclusion était inattaquable. Mais il ajouta que cet azote était à l'état d'ammoniaque, et c'est là qu'est l'erreur; car on sait aujourd'hui que la potasse décompose à l'ébullition certaines matières albuminoïdes très altérables, comme celles qui existent dans l'extrait de la levure, et peut en dégager de l'ammoniaque alors qu'elles n'en renferment pas.

Quoi qu'il en soit, cette affirmation de Döbereiner fut avidement accueillie par Liebig et son école, qui y trouvaient une confirmation précieuse de leurs vues sur le mécanisme de la fermentation. L'agent actif de ce phénomène étant, dans la théorie de Liebig, une matière animale en voie de décomposition, il y avait un grand intérêt à prouver que le ferment le plus puissant, la levure de bière, fournissait, pendant son action, le même produit que celui qui résultait de la destruction et de la putréfaction des substances animales ou végétales, à savoir, de l'ammoniaque. Aussi les conclusions de Döbereiner et les idées de Liebig sont-elles entrées dans la science côte à côte, se soutenant et se défendant les unes les autres, et pendant longtemps elles n'ont trouvé aucun contradicteur.

Absorption d'ammoniaque pendant la fermentation. — En reprenant cette question, M. Pasteur avait, pour l'élucider, un fait nouveau. M. Boussingault avait montré que la magnésie calcinée décompose tous les sels ammoniacaux, tandis qu'elle ne dégage aucune trace d'ammoniaque des matières organiques azotées les plus altérables par la potasse, la soude, la baryte ou la chaux. Il y avait donc à recommencer les expériences de Thénard et de Döbereiner avec ce réactif nouveau, et M. Pasteur trouva ainsi, en dosant l'ammoniaque avant et après la fermentation du sucre dans de l'eau de levure de bière, non seulement qu'il ne se formait pas trace de ce composé, mais que celui qui existait dans la liqueur originelle pouvait disparaître.

Encouragé par ces résultats, il ajouta de l'ammoniaque, à l'état de tartrate droit ou de tartrate gauche, à des liquides renfermant seulement du sucre et ce qu'il aurait fallu de levure pour le faire fermenter. Il vit encore dans ce cas

l'ammoniaque disparaître. Les questions de chiffres étant importantes dans ces matières, voici le tableau résumant les résultats :

Ammoniaque avant.	Origine de l'ammoniaque.	Ammoniaque disparue.	Observations.
0gr,038	Eau de levure.	0gr,018	Fermentation rapide.
0 ,0075	*Idem.*	0 ,007	Fermentation plus rapide.
0 ,0185	Tartrate gauche.	0 ,017	Fermentation très longue.
0 ,088	Tartrate droit.	0 ,017	Fermentation plus longue.

C'est après avoir constaté ces faits, qui montraient que la levure pouvait absorber de l'ammoniaque même lorsqu'elle était en présence des matières azotées pourtant très assimilables que lui fournit l'eau de levure de bière, que M. Pasteur fut conduit à son expérience capitale de la reproduction de la levure, avec fermentation du sucre, dans un milieu ne renfermant que du sucre candi, un sel d'ammoniaque, des cendres de levure, et une quantité pour ainsi dire impondérable de globules frais. Nous avons indiqué, en commençant ce livre, la forme définitive que M. Pasteur a réussi à donner depuis à cette expérience importante, qui a suffi à détrôner la théorie de Liebig. Celle qu'il avait faite à l'origine, et qui se trouve relatée dans son mémoire sur la fermentation alcoolique, n'en a pas moins une valeur historique; et il y a encore intérêt à l'examiner de près, parce qu'elle a été plus complète au point de vue des dosages, et qu'elle se prête à des enseignements que nous n'avons pas pu donner au commencement de ce livre, et qui trouveront tout naturellement leur place ici.

Cette fermentation, pour laquelle on avait mis gros comme une tête d'épingle de levure dans un liquide renfermant 10 grammes de sucre, 0gr.100 de tartrate droit d'ammoniaque, et les cendres de 1 gramme de levure, se montra très régulière et très franche les premiers jours; mais il devint bientôt évident qu'elle était troublée par le développement concomitant d'une fermentation lactique. M. Pasteur ne savait pas encore, à ce moment, préparer de la levure pure. Le milieu minéral qu'il lui offrait étant moins favorable à la levure qu'à des organismes plus simples et moins difficiles, comme le ferment lactique, celui-ci dispute le champ à la levure, et finit par la paralyser.

En interrompant la fermentation au moment où il y avait à peu près la moitié du sucre disparu, M. Pasteur y trouva de l'alcool, et un poids de 0gr.043 de levure sèche. La levure s'était donc multipliée d'une façon non douteuse. On a trouvé dans le liquide de la glycérine et de l'acide succinique. Il y avait donc eu fermentation alcoolique véritable, qui s'était mélangée d'une fermentation lactique reconnaissable aussi à ses produits.

Si donc l'expérience avait échoué au point de vue de la production d'une fermentation alcoolique pure, elle n'en était, au point de vue théorique, que plus probante, puisqu'elle montrait deux fermentations, prises parmi celles dans lesquelles les idées de Liebig avaient trouvé un appui solide, et s'accomplissant toutes deux dans des conditions en contradiction complète avec ces idées.

Mais sur certains détails, elle laissait prise à la critique. Parmi les objections qui lui ont été faites, je citerai seulement les deux plus importantes.

Sur 0gr.0185 d'ammoniaque que contenait le tartrate d'ammoniaque introduit, M. Pasteur avait trouvé qu'il n'y en avait que 0gr.0062 disparue, quantité évidemment très faible. Liebig prétendit que cette perte d'ammoniaque, que M. Pasteur attribuait à une absorption par la levure, était apparente, et tenait à la formation, dans les conditions de l'expérience de M. Pasteur, et aux dépens du phosphate et de la magnésie des cendres de levure, ou bien de la magnésie ajoutée à la fin, d'un peu de phosphate ammoniaco-magnésien, que la magnésie était incapable de décomposer à l'ébullition.

Sur ce point, les constatations très bien faites de M. Mayer sont en complète contradiction avec cette opinion de Liebig, et prouvent que la magnésie permet de retirer du phosphate ammoniaco-magnésien toute l'ammoniaque qu'il contient.

Cette même disparition de l'azote, fondamentale dans l'espèce, a été attribuée par M. Millon à une cause tout autre, à son entraînement par le courant d'acide carbonique qui se dégage. Quelque singulier qu'il fût de voir de l'ammoniaque se dégager ainsi du milieu du liquide acide, j'ai tenu à recommencer l'expérience de M. Millon, et, dans aucun cas, qu'il y eût peu de levure ou qu'il y en eût beaucoup, que la fermentation et, par conséquent, que le courant de gaz fût rapide ou se fît avec lenteur, j'ai toujours vu qu'il n'y avait aucune trace d'ammoniaque entraînée.

Mais il y a un moyen de lever tous les doutes que peuvent provoquer la disparition et l'attribution à une fonction physiologique d'une aussi petite quantité d'ammoniaque que celle de l'expérience de M. Pasteur, c'est de revenir aux conditions expérimentales inaugurées par ce savant dans ses premiers essais, et dans lesquelles il ajoutait du tartrate d'ammoniaque à un mélange d'eau sucrée et de levure capable de subir par lui-même la fermentation alcoolique. L'absorption d'ammoniaque est plus forte que lorsqu'on emploie seulement une trace de levure; on peut l'augmenter en augmentant la proportion de ferment, et on peut faire disparaître toute incertitude sur le rôle qu'elle a joué, en la retrouvant à la fin de l'opération, dans le liquide, à l'état de matière albuminoïde.

Voici une expérience qui réalise ces conditions. Je l'ai faite en ajoutant à un liquide renfermant 40 grammes de sucre, et 1 gramme de tartrate droit d'ammoniaque, 15 grammes de levure en pâte, représentant 2gr,501 à l'état sec, et renfermant 0,215 d'azote.

Ce liquide renfermait donc avant la fermentation les quantités d'azote suivantes :

Dans la levure.	0,215
Dans le tartrate.	0,152
Soit, en tout.	0,367

après la fermentation on a retrouvé :

2gr,236 de levure à 6,36 p. 100 d'azote, soit.	0,148
A l'état de sel ammoniacal.	0,045
A l'état de matière albuminoïde.	0,170

La petite différence trouvée est imputable à une légère action de la magnésie sur les matières albuminoïdes pendant le dosage de l'ammoniaque dans le liquide fermenté, et pendant l'évaporation du résidu pour l'étude de la matière albuminoïde dissoute, évaporation qui a été faite en présence d'un excès de magnésie. Brücke a, en effet, montré que la magnésie pouvait agir comme la potasse sur certaines matières albuminoïdes très altérables.

En négligeant cette perte, on voit que 107 milligrammes d'azote, existant primitivement à l'état d'ammoniaque, ont été transformés en matière albuminoïde dans l'expérience ci-dessus. Au point de vue de la quantité et de la qualité, la preuve est donc complète, et nous pouvons considérer comme démontré le fait important que la levure peut construire ses matériaux albuminoïdes aux dépens des sels ammoniacaux.

En dehors de son intérêt théorique pour la solution de la question que nous nous sommes posée au commencement de ce chapitre, ce fait permet de rapprocher la levure des végétaux supérieurs qui, comme on le sait, jouissent aussi de la propriété de pouvoir former leurs matériaux azotés aux dépens de l'ammoniaque. Mais cette ressemblance n'est pas complète : tandis que les végétaux peuvent aussi emprunter leur azote aux nitrates, la levure, comme l'a montré M. Mayer, est incapable de s'alimenter à la même source. Elle se borne aux sels ammoniacaux.

Aliments azotés de prédilection de la levure. — Pourtant, il ne faudrait pas croire que lorsqu'elle est réduite à ces sels pour nourriture azotée, sa production et la fermentation qu'elle produit soient aussi rapides que lorsqu'on la fait vivre en présence du jus de raisin, du moût de bière ou même de l'eau de levure. Cela ne veut pas dire que les sels ammoniacaux soient pour elle un mauvais aliment. Nous verrons bientôt qu'elle les préfère à d'autres matériaux azotés, qu'on pourrait supposer, au premier abord, plus facilement assimilables, mais cela prouve qu'il y en a de meilleurs ; et nous voilà conduits à nous demander quels sont, dans la presque infinie variété des aliments azotés ou albuminoïdes, ceux que la levure préfère et ceux qu'elle dédaigne.

C'est un sujet que M. Pasteur avait effleuré dans son travail, que M. Mayer a étudié depuis avec beaucoup de soin, qui en outre s'est éclairé peu à peu d'une foule de faits épars. Pour bien saisir l'ensemble des résultats obtenus, il est nécessaire d'anticiper un peu sur des notions que nous aurons à développer à propos des ferments des matières albuminoïdes, mais sur lesquelles il est utile de dire un mot à cette place.

Sans entrer dans le détail, d'ailleurs très obscur, de la constitution des diverses matières albuminoïdes ou azotées des êtres vivants, on peut se les représenter comme formant une chaîne continue, à chaînons très nombreux, passant avec des transitions ménagées des unes aux autres, et commençant par les matières albuminoïdes proprement dites, comme l'albumine, la caséine, la fibrine, pour finir par des matériaux azotés et cristallisables, comme le sont la leucine, la tyrosine, l'urée et le carbonate d'ammoniaque.

Envisagé au point de vue des transformations qu'il fait subir à ces matériaux

divers, le phénomène de la nutrition revient à utiliser les termes intermédiaires de la série, pour en élever une portion à un niveau d'organisation supérieur, pendant que l'autre descend l'échelle de destruction organique, et se retrouve dans les produits d'excrétion des cellules, comme une sorte de résidu vital.

En consommant, par exemple, du bouillon de viande, un homme peut suffire à son alimentation azotée et se faire de la chair et du sang, en même temps qu'il évacuera des matériaux tels que l'urée, qui ne sont plus assimilables.

Il semble, au premier abord, qu'il suive une tout autre marche quand il consomme lui-même de la viande ou de l'albumine d'œuf, dont la constitution rappelle celle de ses propres tissus. Mais cette fibrine et cette albumine ne sont assimilées qu'après avoir été transformées par la digestion, et avoir descendu, ne fût-ce que de quelques degrés, l'échelle de destruction organique.

L'albumine, la caséine, la fibrine ne sont, en effet, pas assimilables sous leur état actuel pour la plupart des cellules. Elles ne le sont que pour certaines cellules, sécrétant des diastases particulières qui agissent sur ces substances comme la diastase de la levure sur le sucre candi, pour transformer en produit alimentaire une substance qui ne l'est pas par elle-même.

Ce sont ces cellules appartenant soit au monde des infiniment petits, soit à celui des animaux supérieurs, qui, seules, peuvent se nourrir de ces aliments complexes; encore ne peuvent-elles le faire qu'après les avoir modifiés et rendus solubles dans l'eau, lorsqu'ils ne le sont pas.

Ces aliments modifiés sont devenus maintenant capables d'alimenter d'autres cellules qui les transforment, en ramènent une partie à l'état solide et vivant, et en laissent l'autre partie à l'état de résidu alimentaire. Ce résidu est à son tour repris par une espèce différente, jusqu'à ce qu'en dernière analyse, les aliments primitifs aient pris en totalité d'un côté une forme animée, de l'autre côté une forme inassimilable.

On peut donc prévoir, *a priori*, que chaque espèce de cellules vivantes doit avoir la propriété de choisir, dans l'échelle des composés azotés et albuminoïdes, un certain nombre de termes qui lui conviennent de préférence, et auxquels elle empruntera plus facilemeut sa nourriture azotée qu'à tous les autres. Elle pourra les prendre tantôt au haut, tantôt au bas de l'échelle, tantôt à la fois au haut et au bas, suivant ses aptitudes, mais en obéissant toujours à la loi qui lui impose, à mesure qu'elle en assimile une partie, l'obligation de donner à une autre portion une forme nouvelle, assimilable peut-être pour les espèces voisines, mais inassimilable pour elle.

Cela posé, demandons-nous à quelles sources s'alimente de préférence la levure. Commençons par les matières albuminoïdes proprement dites.

Après avoir prouvé que la levure pouvait emprunter son azote aux sels ammoniacaux, M. Pasteur essaya l'influence de l'albumine du blanc d'œuf : « J'ai été surpris, dit-il, de trouver cette matière tout à fait impropre à nourrir les globules de levure de bière. Que l'on dissolve du sucre dans de l'albumine d'œuf frais, délayée dans de l'eau et filtrée, rendue ou non très peu acide : que l'on ajoute une très petite quantité de levure de bière, les globules semés ne se développeront pas du tout; il n'y aura pas trace de fermentation. »

Colin et Thénard avaient pourtant avancé qu'une dissolution d'albumine sucrée et abandonnée à elle-même fermente, mais cela n'a lieu qu'après trois semaines ou un mois de séjour à l'étuve; or, dans l'intervalle de temps qui s'écoule jusqu'à l'apparition de la fermentation alcoolique, l'albumine nourrit une infinité d'êtres appartenant en général au monde des bactéries, possédant la propriété de se nourrir aux dépens de l'albumine, par conséquent de la modifier, et pouvant dès lors préparer pour la levure un aliment différent de l'aliment originel, et plus ou moins assimilable pour elle.

Résultats de M. Mayer. — D'après les expériences de M. Mayer, la caséine, la fibrine, sont à peu près dans le même cas que l'albumine. La fermentation en leur présence n'est jamais nulle, mais elle est extraordinairement pénible et lente. En résumé, ces matériaux constitutifs de l'organisme ne sont pas assimilables pour la levure.

Il en est tout autrement du sérum du sang ou de celui des muscles. Si on les considère comme des produits destinés à l'alimentation des tissus, ils ne sont pas encore montés au rang qu'ils doivent occuper. Si on les considère comme des produits de régression, ils en sont descendus. Avec eux, le sucre fermente presque aussi facilement que s'il était dissous dans un jus naturel ou dans l'eau de levure. Il y a, il est vrai, dans le sérum ou dans le liquide exprimé des muscles, un peu d'albumine; mais cette albumine paraît ne pas prendre part à leurs propriétés nutritives pour la levure, car le sérum coagulé par la chaleur, puis bouilli et filtré à limpidité parfaite, pour séparer l'albumine coagulée, alimente la fermentation comme le sérum normal.

Ceci nous amène à penser que nous devons surtout rechercher les aliments azotés de la levure parmi ces matières albuminoïdes solubles dans l'eau, dialysables, et plus ou moins insolubles dans l'alcool, qu'on rencontre dans le sérum. Nous sommes confirmés dans cette idée en songeant à la composition des liquides organiques les plus propres à la fermentation alcoolique. Le jus de raisin, le jus de betterave acidulé suivant la pratique de M. Dubrunfaut, le moût de bière ne renferment pas d'albumine ou l'albumine n'y joue aucun rôle. Ils renferment en revanche beaucoup de matières protéiques solubles dans l'eau bouillante et les acides étendus, ce que ne sont pas les matières albuminoïdes proprement dites.

M. Mayer, de son côté, a trouvé que la pepsine, préparée par la méthode de Wasmann, donnait aussi des fermentations promptes et régulières. Elles le sont moins pourtant, toutes choses égales d'ailleurs, qu'avec le moût de bière ou de raisin. Il a insisté sur ce fait qu'il ne fallait pas voir là l'action de la pepsine comme diastase, puisque la puissance de cette substance persistait après l'ébullition qui détruisait la diastase. L'effet est dû aux matériaux albuminoïdes déjà en partie assimilés qui accompagnent la pepsine pendant sa préparation; et la preuve, c'est que si on emploie la méthode de Brucke, qui donne une diastase plus active et un produit plus pur, on le trouve plus impropre que la pepsine de Wasmann à activer la fermentation alcoolique. D'un autre côté, d'autres ferments digestifs, la ptyaline, la pancréatine, se montrent à peu près sans action.

Peut-on descendre très bas dans l'échelle des composés azotés et arriver aux derniers termes? M. Mayer, qui a fait sur eux de nombreuses expériences, en s'adressant naturellement de préférence à ceux qui étaient cristallisables et faciles à obtenir purs, les a trouvés en général impropres à fournir à la levure son aliment azoté.

La créatine et la créatinine sont à peu près au même niveau que l'albumine, la fermentation ne marche pas mieux qu'en l'absence de tout aliment azoté. Remarquons que ce sont des produits d'excrétion des tissus.

La guanine, la caféine, sont aussi à peu près sans action. Il en est de même de l'asparagine en liquide un peu acide. En liquide faiblement alcalin, elle se comporte un peu mieux, sans doute par suite de sa transformation en sel d'ammoniaque.

L'urée peut alimenter une fermentation très lente. L'allantoïne se rapproche davantage par son activité des sels ammoniacaux. On peut, du reste, dire d'une manière générale, avec M. Mayer, que les substances les plus impropres à l'alimentation de la levure sont les substances à composition complexe, et pauvres en oxygène, tandis que celles qui sont plus oxydées et plus voisines par leur composition des sels ammoniacaux participent à leurs propriétés, sans pourtant atteindre leur puissance.

Résultats de MM. Bialoblocki et Rosler. — Tous ces résultats de M. Mayer, que nous venons d'énumérer, ne sont pas absolus, et relèvent plus ou moins de la critique que nous avons faite au chapitre précédent, des travaux de ce savant. Ils ont été obtenus en mettant dans un milieu minéral, en somme peu favorable, la matière azotée à étudier, en proportions telles qu'il y eût toujours la même quantité d'azote, et en ajoutant de la levure du commerce, qui apportait et laissait se développer plus ou moins, suivant l'occasion, les germes d'autres fermentations. Quelques-uns des résultats négatifs signalés plus haut tiennent sans doute au trouble produit par ces fermentations concomitantes.

Du moins, dans d'autres expériences, conduites sur le même plan que les précédentes, quoique sans beaucoup plus de garanties au sujet de la pureté de la levure, MM. Bialoblocki et Rosler ont obtenu d'autres résultats. La guanine, sans action dans les expériences de M. Mayer, a atteint à peu près le niveau de la pepsine. Il en est de même pour l'acide urique. Le nitrate d'urée et l'amygdaline n'ont alimenté que des fermentations très lentes. Avec le nitrate d'ammoniaque, la fermentation a été deux fois environ plus lente qu'avec la pepsine, mais il y était intervenu des organismes étrangers.

Toute cette question serait, comme on voit, à reprendre de près, pour mettre en lumière, d'une façon sûre, l'influence particulière de ces diverses substances. Mais lorsqu'on envisage dans leur ensemble les résultats obtenus, ils justifient assez bien les conclusions de M. Mayer que nous avons signalées plus haut.

Nous avons ainsi résolu la première partie de la question que nous nous étions posée. Nous savons maintenant à quels termes de la série des substances azotées la levure peut emprunter son azote. Nous venons de voir qu'elle ne s'adresse pas tout à fait aux premiers, mais à ceux qui viennent ensuite, et en choisis-

sant entre des limites assez bornées, passé lesquelles il n'y a plus pour elle que des substances inertes. Ce n'est que vers les derniers termes de la série que reparaît sa puissance assimilatrice. Ce n'est pas le moment d'insister ici sur cette particularité curieuse de l'existence de la levure, qu'elle puisse emprunter son azote à deux sources aussi différentes que le moût de bière et les sels ammoniacaux. Nous retrouverons plus tard cette question. Il nous reste pour le moment, et pour terminer avec ordre notre étude de l'alimentation azotée de la levure, à poursuivre la vérification de l'idée que nous nous sommes faite de cette nutrition jusque dans la conséquence que nous en avons tirée, c'est que cette nutrition doit s'accompagner de l'élimination de produits azotés, impropres ou au moins peu propres à entretenir la vie des globules.

Matériaux d'élimination de la levure. — M. Pasteur a le premier constaté que lorsqu'on évapore à consistance d'extrait un liquide fermenté, et qu'on débarrasse cet extrait de tous les produits connus de la fermentation qui proviennent du sucre, on obtient un résidu azoté, fourni à peu près exclusivement par la levure, se rapprochant de celui qu'on obtiendrait dans les mêmes conditions en traitant de la levure fraîche, mais s'en éloignant d'autant plus que la fermentation a davantage épuisé la levure, et que celle-ci a eu à transformer un poids de sucre plus considérable par rapport au sien. Cette sorte de résidu vital des cellules est en outre bien moins propre à alimenter une fermentation nouvelle où on n'introduirait que lui comme élément azoté, et il l'est d'autant moins qu'il provient d'une levure plus épuisée.

A quoi cela est-il dû? On pourrait penser que cet extrait de levure épuisée est moins azoté que celui de levure fraîche, et que la différence de puissance tient à cette différence de composition.

M. Mayer a préparé, par le procédé suivant, de l'extrait d'une levure épuisée. Un liquide de fermentation a été filtré, puis évaporé, débarrassé par des lavages convenables de tous les produits connus de fermentation dérivant du sucre. Le résidu a été redissous dans l'eau additionnée de sucre, et remis au contact de la levure de la première fermentation, gardée et recueillie sur le filtre. Une nouvelle fermentation s'est produite, plus lente que la première. On a continué ainsi jusqu'à ce que la levure s'est refusée à faire fermenter le sucre, on a filtré, évaporé et séparé de nouveau l'extrait azoté. Celui-ci différait beaucoup de celui que donne la levure fraîche. Comme M. Pasteur l'avait déjà vu, il sent davantage le caramel ou le pain grillé, il est plus brun et plus brillant. Sa teneur en azote était de 5 p. 100, tandis que l'extrait obtenu de la même manière avec la levure fraîche ne renfermait que 4 p. 100 d'azote. Cependant en les employant tous deux à poids égal, le premier a donné une fermentation beaucoup plus active que l'autre, avec lequel, malgré l'ensemencement, la levure a cédé la place à des levures étrangères.

L'expérience ci-dessus, dont nous avons cité quelques détails parce qu'ils nous seront utiles plus tard, n'est donc pas absolument probante au point de vue de la comparaison des deux sortes d'extrait; mais nous y voyons pourtant que l'extrait de levure épuisée est plus azoté que l'autre, et que, cependant, cet excès d'azote n'a pas empêché la fermentation, à laquelle il a été employé, de dévoyer,

malgré la composition en apparence très favorable du milieu. Nous voilà donc conduits, comme nous l'étions du reste par les premiers résultats de M. Pasteur, à penser que ce n'est pas tant une question de quantité qu'une question de qualité qui est en jeu.

Pourtant, avant d'arriver à cette conclusion, nous avons encore une objection à faire disparaître. On a le droit de rechercher les causes des différences d'action que nous venons de constater dans la nature et la proportion des éléments minéraux contenus dans les deux sortes d'extraits. Il est certain qu'ils ne se ressemblent pas sous ce rapport. M. Pasteur a vu que l'extrait du liquide fermenté renfermait de moins en moins de phosphate de magnésie, à mesure que la fermentation devenait plus longue et plus pénible. Ce sel se fixe peu à peu sur les globules de nouvelle formation, et le liquide appauvri doit devenir de plus en plus impropre à nourrir de nouveau ferment. Il est donc nécessaire de montrer par l'expérience que c'est uniquement au changement de nature des matériaux azotés qu'il faut rapporter les différences entre l'extrait de levure fraîche et celui de levure épuisée.

Cette expérience peut être comprise et conduite de bien des façons. Voici celle qu'a adoptée M. Mayer. Il dispose trois fermentations identiques pour le volume du liquide, la quantité de sucre et la quantité d'aliments minéraux, différentes seulement en ce qu'elles contiennent des quantites différentes de l'aliment azoté, dans l'espèce, de pepsine de Wasmann, dont M. Mayer avait reconnu le pouvoir nutritif très grand pour les globules de levure.

Voici quelle était la composition de ces trois liquides :

20cc d'une solution à 18 p. 100 de sucre,
0gr,1 phosphate acide de potasse,
0gr,05 sulfate de magnésie cristallisé,
et 0gr,15 puis 0gr,10, puis 0gr,05 de pepsine de Wasmann.

La nourriture azotée ayant été employée en excès, même pour le liquide qui en renfermait le moins, les trois fermentations marchent à peu près du même pas. Quand elles sont terminées, on filtre, on évapore pour chasser l'alcool, on ramène le liquide à un très petit volume, et on le fait revenir sur sa levure après avoir ajouté partout des quantités égales de sucre. Cette fois-ci, la fermentation la moins riche en pepsine montre un retard, qui s'accuse davantage si l'on recommence la même épreuve, finit par s'exagérer, et aboutit presque à l'impuissance. Il devient de plus en plus manifeste que le liquide de fermentation est de plus en plus impropre à nourrir des générations nouvelles.

A quoi devons-nous attribuer cet effet? Les conditions de température sont les mêmes pour les trois liquides. Les produits de la fermentation, qui en gênent une nouvelle, s'accumulent à très peu près dans la même proportion partout. La quantité de cendres est restée constante dans les trois flacons, et si leur distribution varie, entre le liquide et les cellules vivantes, c'est là où il y a le plus de vie et de bourgeonnement, là où la fermentation est la plus facile, c'est-à-dire dans les flacons les plus riches en pepsine, que le liquide doit être le plus appauvri. Si l'effet produit tenait aux aliments minéraux, il serait donc en sens inverse de celui qu'on observe. Nous sommes donc réduits à incriminer seulement l'aliment azoté.

Est-ce la quantité ou la qualité qui laissent à désirer, et diminuent à mesure que les fermentations se succèdent? Si c'était la quantité, si les nouveaux globules formés assimilaient et retenaient sous forme insoluble tout l'azote originairement introduit dans la liqueur, les résultats de M. Mayer auraient une explication toute naturelle : la fermentation se ralentirait par suite de l'appauvrissement du liquide en matériaux nutritifs. Mais tel n'est pas le cas, comme nous allons le voir.

Lorsqu'on met en train une fermentation avec du sucre, de l'eau et de la levure, l'expérience montre que le poids de levure sèche, tel qu'on peut l'obtenir en la jetant sur un filtre et la desséchant, peut augmenter, rester stationnaire, ou diminuer pendant la fermentation, suivant la proportion de sucre que la levure a eu à transformer. Nous aurons bientôt à étudier de près ce phénomène. La seule chose qui nous intéresse ici à son sujet est ceci : soit que le poids de levure sèche augmente ou diminue, le poids total d'azote qu'elle renferme à la fin de la fermentation est toujours inférieur à celui qui y existait au commencement. La différence existe à l'état soluble dans la liqueur fermentée, qui au lieu de s'appauvrir s'enrichit en réalité en azote. Voici quelques chiffres qui le prouvent. Je les emprunte à divers travaux sur la fermentation alcoolique.

	Poids de sucre employé.	Poids de la levure sèche.	Proportion d'azote.	Azote total de la levure.	Azote total du liquide.	Autorités.
Avant fermentation.	100	1gr,198	9,77 p. 100	0gr,117	»	Pasteur.
Après fermentation.	»	1 ,745	5,5 »	0 ,096	0gr,029	
Avant fermentation.	40	2 ,501	8,63 »	0 ,215	0 ,152	Duclaux.
Après fermentation.	»	2 ,236	6,36 »	0 ,148	0 ,216	
Avant fermentation.	100	13 ,85	10,1 »	1 ,400	»	Schutzemberger.
Après fermentation.	»	8 ,76	9,98 »	0 ,874	0 ,440	

Ces trois expériences indépendantes sont faites, comme on voit, dans des conditions très différentes. Dans celle de M. Pasteur, le sucre est en excès, la fermentation a été longue et laborieuse, et la levure a notablement augmenté de poids. Dans la seconde, la variation de poids a été très faible et en sens inverse de la précédente; la fermentation a été régulière et rapide. Dans celle de M. Schutzemberger, la levure était en excès, et quelques heures ont suffi pour tout terminer.

Dans l'expérience de M. Duclaux, en outre, le liquide où l'on a introduit la levure renfermait à l'origine 0gr,152 d'azote à l'état de tartrate d'ammoniaque. Toutes ces différences n'ont pas empêché, dans les trois cas, l'azote total de la levure de diminuer pendant la fermentation, et le liquide de s'enrichir, par suite, en composés azotés.

On trouvera au chapitre consacré à étudier l'autophagie de la levure, d'autres nombres, empruntés à M. Schutzemberger, et qui conduisent à la même conclusion que ceux que nous avons donnés plus haut. Nous pouvons donc accepter le résultat que nous venons de signaler comme appartenant à une loi générale.

Il est regrettable que dans l'expérience de M. Mayer, à laquelle nous revenons, il n'ait pas été fait de déterminations d'azote comme celles de plus haut, et que

pour en tirer une conclusion, il faille procéder par voie d'analogie. Cette analogie peut, en effet, être contestée. Il y avait à l'origine, dans le liquide de M. Mayer, de la matière azotée très facilement assimilable; et il paraît bien sûr que la première fermentation qui s'y est accomplie ne peut nullement être rapprochée de celles que nous venons d'étudier, et dans lesquelles la levure ne rencontrait dans le liquide autre chose que du sucre et de l'eau. Mais à partir du moment où les fermentations sont devenues plus lentes et plus difficiles, on peut bien admettre que les conditions des expériences ci-dessus se sont trouvées à peu près réalisées, et que le liquide de M. Mayer ressemblait à celui de la seconde expérience de notre tableau, ou, au moins, à celui de la troisième, où l'excès de levure introduite a laissé de suite se dissoudre une partie de ses éléments azotés. Or, à partir de ce moment, les fermentations sont devenues plus difficiles dans l'expérience de M. Mayer, bien que la proportion d'azote dans le liquide allât toujours en augmentant. Il n'en faut pas davantage pour conclure que c'était la qualité de l'élément azoté qui faisait défaut, et que la levure, dans l'acte de sa vie, élimine des matières albuminoïdes peu propres à lui servir d'aliment. Il y a donc chez elle, comme chez les animaux supérieurs, une sorte d'excrétion de l'azote.

Si l'on connaissait bien, et s'il était possible de séparer les uns des autres tous ces produits d'excrétion, il serait facile d'arriver, par une voie plus rapide, à la conclusion que nous venons d'établir. Il suffirait d'essayer de faire vivre la levure en ne lui offrant que ces produits d'excrétion comme aliments azotés. On ne peut malheureusement isoler que les plus simples, ceux qui sont cristallisables, et leur action ne permet pas de conclure à celle des autres. Mais il n'en est pas moins utile d'étudier leur influence.

Dans les liquides où la levure a longtemps vécu, et laissé dissoudre tout ce qu'il y existait et tout ce qu'il s'est produit d'éléments solubles, on trouve, au milieu de corps nombreux dont nous retrouverons l'étude plus tard, de la leucine qui forme la plus grande partie de la masse; or M. Mayer a trouvé précisément que la leucine est très peu propre à l'alimentation de la levure, et cette infériorité n'est pas foncière chez elle, car elle nourrit très bien le mycoderme du vin et les végétations cryptogamiques.

Valeur nutritive de l'eau de levure. — Les faits que nous venons de rencontrer soulèvent une question dont nous avons maintenant le devoir de nous préoccuper. Nous avons fréquemment employé, comme aliment azoté de la levure, l'eau de levure fraîche, qu'on obtient, comme nous l'avons dit, en faisant bouillir dans l'eau de la levure venant d'une brasserie, et en filtrant à clair la décoction obtenue. Quelle est au juste la valeur de ce liquide comme matière alimentaire de la levure?

Ce que nous venons de dire peut nous faire prévoir qu'il y en a de mieux appropriées. C'est ce qui est vrai; le moût de bière, le jus de raisin, le jus acide de betteraves nourrissent en effet la levure beaucoup mieux que l'eau de levure. C'est qu'on a beau prendre la levure la plus fraîche possible, ce ne sont pas moins des matériaux déjà entrés dans la constitution des globules que nous offrons à des globules nouveaux. On comprend que ces derniers y trouvent, à

la rigueur, ce qu'il leur faut, mais on comprend aussi qu'ils puissent trouver mieux ailleurs, précisément dans le liquide qui a servi à nourrir ces globules dont on leur offre la substance, déjà transformée et rendue en partie inerte par un premier travail d'assimilation.

Cette substance, une fois entrée dans ces nouveaux globules, peut en être retirée de nouveau, et devient d'autant plus impropre à servir à un développement nouveau qu'elle a subi un plus long travail à l'intérieur de la cellule. Ceci nous montre que la partie de la cellule qui seule renferme des aliments solubles, le protoplasma, n'est pas identique chez un globule frais et chez un globule vieilli. L'aspect au microscope avertit de ce fait, mais il n'est pas inutile de le voir corroboré par les résultats de l'analyse physiologique. Sans sortir des conséquences légitimes des faits exposés plus haut, nous avons le droit de considérer le protoplasma d'un globule frais, sortant d'un liquide très nutritif, comme renfermant, outre les produits d'excrétion de la vie cellulaire, une sorte de réserve alimentaire, qui a déjà subi, si l'on veut, un commencement de digestion, d'assimilation, mais qui peut encore être retirée sous une forme propre à être offerte à d'autres globules que ceux qui se l'étaient préparée. C'est aux dépens de cette réserve nutritive que vivent les globules qui en possèdent, quand ils n'en trouvent pas autour d'eux, et ils la transforment alors en produits usés. Quand, au contraire, le milieu où ils sont ensemencés leur permet le renouvellement de leur stock alimentaire, ils se maintiennent jeunes et actifs. Nous verrons à diverses reprises reparaître cette idée de la réserve protoplasmique; mais, encore une fois, il n'était pas inutile de la signaler à sa première apparition, puisque l'étude de l'aliment minéral est encore trop incomplète pour nous l'avoir offerte.

Valeur nutritive des sels ammoniacaux. — Nous pouvons maintenant aborder un dernier problème. Nous venons de faire une sorte de classement des liquides nutritifs de la levure. Nous avons vu que le moût de bière et le jus de raisin étaient à un niveau supérieur à l'eau de levure. Où faut-il placer dans cette série les sels ammoniacaux?

Nous avons dit que la levure pouvait les absorber même en présence de l'eau de levure.

Le moment est venu d'insister sur ce fait pour en bien préciser l'importance et la signification. Nous pouvons le faire facilement en prenant l'exemple de trois fermentations faites dans des conditions comparatives, l'une avec sel ammoniacal et sans eau de levure, l'autre avec eau de levure mais sans sel ammoniacal, la troisième avec ces deux sortes d'aliments azotés. Le tableau suivant résume la composition des trois liquides de fermentation et les résultats obtenus.

	I	II	III
Sucre candi	5gr	5gr	5gr
Levure fraîche, 5 gr., pesant à l'état sec	0 ,104	0 ,104	0 ,104
Tartrate droit d'ammoniaque	0 ,250	»	0 ,250
Extrait de levure	«	0 ,665	0 .665
Poids de levure après fermentation	0 ,171	0 ,285	0 ,315
Ammoniaque absorbée	0 ,012	»	0 ,014

Les fermentations faites dans ces conditions ne marchent pas du même pas. III est celle qui va le plus vite; II, qui renferme les mêmes proportions de matières, sauf le tartrate, est plus lente, mais elle n'est guère plus rapide que I, qui ne renferme pas d'eau de levure. Il semble, au premier abord, que celle-ci puisse être remplacée par des sels ammoniacaux.

L'étude des poids de levure fait pencher la balance du côté de ces derniers. On voit qu'avec des activités égales, le poids de levure est bien moindre dans I que dans II. L'activité de la levure, mesurée par la quantité de sucre que peut transformer dans l'unité de temps l'unité de poids de levure fraîche ou sèche, semble donc plus grande, en présence des sels ammoniacaux qu'avec les matériaux de l'eau de levure. Cette activité plus grande coïncide en apparence avec une reproduction moins énergique, mais on ne peut accepter cette conclusion sans quelques réserves. Le seul poids mesuré est le poids des globules secs, sans tenir compte de ce qu'ils ont laissé se dissoudre dans le liquide, et ce poids des globules secs lui-même est dans un rapport inconnu d'avance, et variable d'une fermentation à l'autre, avec le poids total de globules réellement entrés en action pendant la durée de la fermentation, et dont une portion a été comme épuisée ou dissoute quand le liquide n'est pas tout à fait propre à les nourrir.

La reproduction de levure semble avoir aussi été beaucoup plus énergique dans III. On voit pourtant que la proportion d'ammoniaque absorbée n'est pas très différente de ce qu'elle était dans I, où il n'y avait pas du tout d'aliment albuminoïde. La présence de ces aliments, dans l'eau de levure, n'empèche donc pas la levure d'absorber l'ammoniaque.

Doit-on en conclure qu'elle les préfère aux matières albuminoïdes qu'elle rencontre dans cette eau? On pourrait en être tenté après ce que nous avons dit plus haut; mais j'ai vu que la même chose se produisait avec le moût de raisin, que, dans ce moût, l'ammoniaque qu'on y ajoutait sous forme de tartrate était absorbée aussi, et avec une grande rapidité. Bien mieux, presque tous les moûts de raisin renferment en petite quantité un sel ammoniacal, dont on ne retrouve plus guère que des traces dans le vin qui résulte de leur fermentation. Voici quelques nombres qui le prouvent.

Ils se rapportent à des raisins du vignoble d'Arbois (Jura), et donnent les quantités d'ammoniaque par litre de moût et par litre de vin provenant de ces moûts.

	Moût.	Vin.
Enfariné	0,1201	0.0005
Ploussard	0,0088	0,0020
Trousseau	0,0402	0,0050
Naturé	0,0712	0,0014
Pinot	0,0721	0,0000
Valet noir	0,0208	0,0052

L'aliment ammoniaque est donc assimilé même en présence des matériaux pourtant si assimilables des moûts, et pourtant, la fermentation avec ce moût est infiniment plus active qu'avec tous les mélanges salins où l'ammoniaque entre seule comme élément azoté. Comment expliquer cette contradiction? Faut-il croire qu'elle tient à l'imperfection de nos connaissances, et à ce que

nous n'avons pas pour la levure l'équivalent du liquide Raulin pour l'*aspergillus niger*. Cela peut être, mais il y a une autre explication. La levure se comporte comme un végétal, quand elle absorbe l'ammoniaque pour faire ses matériaux azotés, comme un animal, quand elle consomme du sucre, ou détruit de la matière albuminoïde. Sa vie normale peut exiger le concours de ces deux genres de fonctions. Il se peut qu'elle ait normalement besoin de sels ammoniacaux, de sucre et de matières azotées complexes. Quand ces trois catégories d'éléments ne sont pas présentes, il s'établit des suppléances, comme dans tous les êtres vivants : la levure se fait péniblement de la matière albuminoïde aux dépens de l'ammoniaque, ou plus facilement de l'ammoniaque aux dépens de la matière albuminoïde. Au moins trouve-t-on toujours : des matériaux azotés complexes dans un liquide où on a fait vivre la levure en présence d'un sel ammoniacal, et de l'ammoniaque, en petite quantité, il est vrai, dans l'eau de levure. En d'autres termes, dans le stock alimentaire du protoplasma, on trouve toujours des substances albuminoïdes et des sels ammoniacaux, que l'expérience apprend être encore assimilables pour la levure, et que nous avons le droit de séparer de tout ce qui, dans ce protoplasma, ne peut plus désormais servir à la nutrition.

Telle est l'autre explication que suggèrent les faits que nous venons d'apprendre à connaître. Nous verrons plus tard quelle est celle de ces deux explications qui est la plus vraisemblable.

BIBLIOGRAPHIE

FABRONI. — Mémoire sur les fermentations vineuse, putride, acéteuse. *Ann. de chimie*, t. XXXI, 1799.

THENARD. — Mémoire sur la fermentation vineuse. *Ann. de chimie*, t. XLVI, 1803.

COLIN. — Mémoire sur la fermentation vineuse. *Ann. de ch. et de phys.*, 2ᵉ série, t. XXXVIII, 1825.

LIEBIG. — Sur les phénomènes de fermentation et de putréfaction. *Ann. de ch. et de phys.*, t. LXXXI, et *Lettres sur la chimie*.

PASTEUR. — Mémoire sur la fermentation alcoolique. *Ann. de ch. et de phys.*, t. LVIII, 1859.

MAYER. — *Untersuchungen uber die alkoolische gahrung*. Heidelberg, C. Winter, 1869.

BIALOBLOCKI et RÖSLER. — *Zur Hefefrage. Ann. der Œnologie*, t. I, 1870,

MILLON. — Sur l'absorption de l'ammoniaque par la levure de bière. *Comptes rendus*, t. LIX.

DUCLAUX. — Même sujet. *Comptes rendus*, t. LIX.

— Sur l'absorption d'ammoniaque et la production d'acides gras volatils pendant la fermentation alcoolique. *Ann. de l'École normale sup.*, t. II, 1866.

SCHUTZENBERGER. — *Les fermentations*. Paris, 1875.

CHAPITRE XXIX

ALIMENTS HYDROCARBONÉS DE LA LEVURE

Le développement logique de notre exposé nous amène à parler de l'aliment hydrocarboné de la levure. Nous avons à le faire plus longuement que pour les matériaux que nous avons rencontrés. L'étude des transformations du sucre, de ses relations avec la levure, constitue à elle seule l'histoire presque entière de la fermentation alcoolique. Mais le moment n'est pas venu d'entrer dans l'exposé de la théorie. Nous avons ici à nous poser pour les aliments hydrocarbonés les mêmes questions que celles que nous venons d'essayer de résoudre pour les autres. Quels sont ceux que la levure préfère? quels sont ceux dont elle peut à la rigueur se contenter? quels sont ceux qu'elle rejette?

Nous savons déjà que ses aliments de prédilection sont les sucres. Parmi ceux-ci, celui qui a été le premier étudié dans ses rapports avec la levure est le sucre de cannes. C'est avec lui que Lavoisier a fait la mémorable expérience que nous avons citée au début de ce livre, pour en marquer l'importance historique, et sur laquelle nous allons revenir, parce que nous allons y trouver à la fois un enseignement important, et une curiosité philosophique.

Sucre de cannes. — Nous avons vu que Lavoisier avait soumis à la fermentation un poids donné de sucre blanc, et avait mesuré le poids de l'acide carbonique dégagé, et celui de l'alcool resté dans le vase avec une petite quantité d'acide acétique qu'il croyait, à tort, être un des produits normaux de la transformation du sucre. En ramenant ses résultats à 100 grammes de sucre blanc, on trouve qu'il avait obtenu, la fermentation terminée :

	$60^{gr},2$	d'alcool,
	36 ,8	d'acide carbonique,
	2 ,6	d'acide acétique,
soit en tout. . . .	$99^{gr},6$	de matériaux divers

représentant assez exactement la quantité de sucre employé. Il y avait donc, conformément à l'expression de Lavoisier, « une égale quantité de matière avant et après l'opération » ce qui prouvait qu'on en avait bien tous les termes.

Mais il y avait plus. Il devait exister une relation pondérale analogue entre les poids des éléments constituants de ces diverses substances, poids que les procédés d'analyse élémentaire inaugurés par Lavoisier lui permettaient de connaître. Cette relation, vérifiée, devait servir de critérium à la fois de la justesse de ces procédés, et de l'exactitude des résultats obtenus dans l'étude de la fermentation alcoolique. Il est curieux de voir de près comment s'est faite cette vérification. En voici les éléments, ramenés à la même unité que plus haut :

		Carbone.	Hydrogène.	Oxygène.
		—	—	—
60gr,2	d'alcool contiennent, d'après Lavoisier. . .	17,4	10,0	32,8
36 ,8	d'acide carbonique.	10,3	»	26,5
2 ,6	d'acide acétique.	0,6	0,2	1,8
99gr,6	du produit total.	28,3	10,2	61,1
100gr	de sucre blanc.	28,0	8,0	64,0
	D'où, différences.	+ 0,3	+ 2,2	—2,9

La coïncidence dans le poids des éléments est moins bonne que pour le poids des matières elles-mêmes, mais l'intuition hardie et pénétrante de Lavoisier la juge suffisante, et il tire de l'ensemble de l'étude la belle conclusion que nous avons rappelée. « Les effets de la fermentation vineuse se réduisent donc à séparer en deux portions le sucre qui est un oxyde, à oxygéner l'une aux dépens de l'autre pour former de l'acide carbonique, à désoxygéner l'autre aux dépens de la première, pour en former une substance combustible qui est l'alcool, de sorte que s'il était possible de recombiner ces deux substances, l'alcool et l'acide carbonique, on reformerait du sucre. »

Remarquons qu'il n'est plus question de l'acide acétique dans cette phrase, et que le sucre n'y est plus considéré que comme « se séparant en deux portions, » l'alcool et l'acide carbonique. Cela donnait au phénomène une simplicité bien faite pour séduire. Nous allons voir que cette idée de simplicité s'est imposée longtemps aux esprits et a arrêté bien des efforts, tant est grande l'influence qu'un homme de génie exerce sur ses contemporains et ses successeurs, même lorsqu'il se trompe.

La coïncidence trouvée par Lavoisier pour le poids des substances élémentaires, son *compte-éléments*, s'il nous est permis d'employer cette expression pour l'opposer à celle de *compte-matières*, ne se vérifiait que par suite d'une compensation d'erreurs. Il y a dans 100 grammes de sucre plus de carbone, moins d'hydrogène et d'oxygène que ne le croyait Lavoisier. D'un autre côté, dans les produits de la fermentation, l'acide carbonique est évalué trop bas, l'alcool trop haut, et même beaucoup trop haut, car 100 grammes de sucre de cannes ne donnent guère plus de 50 grammes d'alcool pur. La différence n'est pas explicable par ce fait que l'alcool recueilli par Lavoisier était trop aqueux, car il faudrait admettre que cet alcool était au plus à 85 p. 100, et on savait, à cette époque, le déshydrater au delà de ce degré. Il y a là quelque chose d'inexplicable. Quoi qu'il en soit, à cette erreur sur le compte-matières venait s'ajouter une erreur sur le compte-éléments. La composition de l'acide carbonique est assez exacte, mais le carbone de l'alcool est évalué trop bas, comme pour le sucre,

l'hydrogène et l'oxygène trop haut. Toutes ces erreurs s'équilibrent à peu près, mais elles existent et ne pouvaient manquer d'être relevées lorsqu'en 1815 les analyses si précises de Gay-Lussac et de Thénard et les travaux de Saussure eurent fixé d'une manière définitive la composition du sucre et de l'alcool.

Il devint dès lors évident que tout était à reprendre dans le compte-matières et dans le compte-éléments de Lavoisier, que toute la base expérimentale de sa théorie faisait dès lors défaut. Mais l'idée que sa théorie était juste était dans les esprits, elle y resta, et en constatant qu'avec 2 équivalents d'alcool $C^4H^6O^2$ et 4 équivalents d'acide carbonique on retrouvait à peu près la formule du sucre, Gay-Lussac se crut autorisé à écrire la phrase suivante : « Si on suppose que les produits que fournit le ferment puissent être négligés relativement à l'alcool et à l'acide carbonique qui sont *les seuls résultats sensibles* de la fermentation, on trouvera qu'étant donnés 100 grammes de sucre, il s'en convertit pendant la fermentation 51,34 en alcool et 48,66 en acide carbonique. »

Il y a dans cette phrase, de plus que dans celle de Lavoisier, la préoccupation nouvelle de l'existence et du rôle du ferment, mais pour le reste, c'est la conception de Lavoisier qui domine. Gay-Lussac ne fait pas d'expérience nouvelle et partage simplement le nombre 100 en parties proportionnelles au poids de 4 équivalents d'acide carbonique et de 2 équivalents d'alcool.

Chose assurément singulière, les deux chiffres que lui fournit ce calcul sont, à peu de chose près, tout à fait exacts et d'accord avec les résultats les plus précis de M. Pasteur; mais la conception qui les avait donnés n'en est pas moins inexacte, non seulement sur le terrain théorique, mais encore sur le terrain des chiffres où elle s'était placée. Avec les quantités de carbone, d'hydrogène et d'oxygène entrant dans 4 équivalents d'acide carbonique et 2 équivalents d'alcool, on ne retrouve pas la formule du sucre. Le compte-matières est juste, parce qu'il est artificiel, mais le compte-éléments ne l'est pas. Gay-Lussac l'avait bien remarqué, mais sa confiance dans l'interprétation de Lavoisier était telle qu'il aima mieux admettre une erreur sur l'analyse du sucre de cannes que d'y renoncer.

Ce n'est qu'en 1828 que MM. Dumas et Boullay firent remarquer qu'on rétablissait l'équilibre dans le compte-éléments en admettant que le sucre de cannes avait la composition $C^{12}H^{11}O^{11}$ au lieu de la formule $C^{12}H^{12}O^{12}$ voulue par l'équation de Gay-Lussac

$$2C^4H^6O^2 + 4CO^2 = C^{12}H^{12}O^{12}.$$

Mais alors le compte-matières de Gay-Lussac ne se vérifiait plus, et 100 parties de sucre de cannes devaient, en s'assimilant 5,26 parties d'eau, donner 53,8 parties d'alcool et 51,46 parties d'acide carbonique suivant l'équation

$$C^{12}H^{11}O^{11} + HO = 2C^4H^6O^2 + 4CO^2.$$

Cette équation est restée dans la science. Elle résume les efforts de trois générations de grands chimistes et mérite de ce chef d'être conservée; il importe toutefois de remarquer tout de suite qu'elle n'a aucune base scientifique. Elle n'est pas d'accord avec les résultats de Lavoisier. Ni Gay-Lussac ni MM. Dumas

et Boullay n'ont fait d'expériences pour la vérifier. Mais elle perpétue dans la science une vue de génie ; elle est simple, elle éclaire un phénomène qui, pour les contemporains de Lavoisier, était, au dire de Fourcroy, « *un des secrets les plus impénétrables de la nature,* » et qui, depuis, n'a pas cessé d'avoir son côté mystérieux. Elle n'est pas très en désaccord avec la vérité. Cela explique qu'elle vive, et même que les esprits aient eu une certaine peine à ne plus l'envisager comme résumant en une ligne le phénomène entier de la fermentation alcoolique.

En admettant, pour le moment, qu'elle représente exactement les faits, elle montre que le sucre de cannes ne peut fermenter sans s'assimiler les éléments d'une molécule d'eau. Dubrunfaut observa en effet, en 1832, que ce sucre se transformait pendant la fermentation en sucre incristallisable. Dobereiner et Mitscherlich virent, à leur tour, que la levure et même l'eau de levure suffisaient à produire cette transformation. Nous avons vu, dans les chapitres précédents, tout ce qui se rapporte à ce côté du phénomène, sur lequel nous ne reviendrons pas.

Autres sucres fermentescibles. — A côté du sucre de cannes viennent se placer d'autres sucres de même composition, $C^{12}H^{11}O^{11}$, parmi lesquels les seuls qui nous intéressent sont ceux qui peuvent fermenter en s'assimilant les éléments d'une molécule d'eau. Ce sont, dans l'ordre de leur facile attaque par la levure de bière :

Le maltose, dont nous connaissons déjà l'histoire;

Le mélézitose qu'on retire de la manne de Briançon;

Le mélitose qui, en outre de l'alcool, donne un résidu sucré non fermentescible, l'eucalyne;

Le mycose, sans doute identique au tréhalose de M. Berthelot, et qu'on retire du seigle ergoté.

Il faut dire pourtant que l'action de la levure sur ces trois derniers sucres est mal connue, et qu'il n'est pas sûr que leur fermentation soit assimilable à celle qu'éprouve le sucre de cannes.

Les sucres de formule $C^{12}H^{12}O^{12}$ qui peuvent subir la fermentation alcoolique sont aussi très peu nombreux. Nous ne connaissons que :

La dextrose (glucose) et le lévulose qui sont les éléments du sucre interverti;

Le sucre neutre, optiquement inactif sur la lumière polarisée, que nous retrouverons tout à l'heure;

Le galactose, résultant de l'action de l'acide sulfurique étendu sur le sucre de lait.

Aucun des autres membres de la famille des sucres ne peut servir à la nourriture des globules de levure. Celui chez lequel il est le plus curieux de constater cette résistance est le sucre de lait, qui est si nettement alimentaire pour les mammifères. Semée dans une dissolution de lactose additionnée de sels minéraux ou de matières organiques, la levure de bière continue à vivre, peut emprunter au sucre, quoique péniblement, le carbone nécessaire à la construction de ses tissus.

On récolte, dans ces conditions, un poids de matière vivante supérieur à celui qu'on a semé, ce qui prouve que le sucre a servi d'aliment et est entré dans la construction des globules nouveaux, mais on ne trouve pas dans le liquide la plus petite trace d'alcool. Nous verrons bientôt qu'on peut faire vivre et prospérer la levure dans un liquide organique absolument privé de sucre. Elle emprunte alors à la matière azotée qui l'entoure tous les éléments de ses tissus. L'introduction du sucre de lait dans un pareil liquide ne change quasi rien au jeu des réactions, tandis que l'arrivée de sucre de cannes provoquerait immédiatement une fermentation alcoolique.

Fermentation élective des sucres. — Ceci prouve que tout ne se résout pas pour la levure dans une question de formule chimique. Nous avons du reste indiqué plus haut que les divers sucres de formule $C^{12}H^{11}O^{11}$ ou $C^{12}H^{12}O^{12}$, qui étaient fermentescibles, ne l'étaient pas aussi facilement les uns que les autres. Mais il y a plus. Dans ceux que la levure transforme le plus facilement, elle fait un choix, manifeste des préférences, où nous allons retrouver l'influence du pouvoir rotatoire que nous avons déjà constatée à propos des mucédinées.

C'est même sur les sucres que le fait a été observé pour la première fois. M. Dubrunfaut, en 1847, observa qu'en soumettant à la fermentation du sucre interverti, la rotation gauche initiale de la liqueur demeurait constante jusqu'à ce qu'il y eût environ les deux cinquièmes du poids du sucre transformés en alcool, puis qu'à partir de ce moment la diminution de la rotation se faisait en progression géométrique quand les quantités d'alcool augmentaient en progression arithmétique.

Tous les sirops de raisin ou de fruits bien mûrs se comportaient comme le sucre interverti. Avec le glucose, au contraire, la diminution de rotation suivait dès l'origine les progrès de la formation de l'alcool. Enfin, en arrêtant la fermentation du sucre interverti lorsqu'il y avait, produits, les $\frac{8}{10}$ de l'alcool possible, on trouvait en dissolution un sucre gauche, qui n'est autre que la lévulose mélangée encore d'une faible proportion de sucre interverti.

De ces observations, Dubrunfaut tire deux conclusions. La première, bien confirmée depuis, est que le sucre interverti n'est pas simple ; la seconde est que pendant sa fermentation, le premier corps qui se détruise est un sucre neutre, que le dernier qui reste est un sucre gauche, et qu'entre les deux, les sucres qui fermentent sont des sucres mixtes formés sans doute d'un mélange à proportions variables du sucre neutre et du sucre gauche.

Cette interprétation conduit à un phénomène compliqué et n'est probablement pas exacte. Il est plus probable que ce qui disparaît tout d'abord, sans changer la rotation du liquide, est un mélange de dextrose et de lévulose dans les proportions qui assurent la neutralité optique, c'est-à-dire environ deux du premier contre un du second. Puis, quand le dextrose commence à être rare, le lévulose est attaqué en plus fortes proportions, mais il finit par rester seul dans la liqueur à la fin de l'opération.

Malgré l'importance du sujet, la question n'a pas été étudiée de plus près, et

la justesse de notre interprétation est à son tour contestable. Il est certain, en effet, qu'il intervient quelquefois dans ces phénomènes un sucre inactif sur la lumière polarisée. C'est ce qui résulte des expériences que nous allons résumer et qui, bien qu'elles n'aient pas porté spécialement sur la levure de bière, n'en sont pas moins riches d'enseignement sur le sujet que nous traitons dans ce chapitre.

Constitution du sucre interverti et du sucre neutre. — Nous avons vu, p. 139, que la formation du sucre interverti était presque toujours précédée de la formation d'un sucre inactif sur la lumière polarisée. Le moment est venu d'étudier de plus près que nous ne l'avons fait la constitution de ces sucres.

M. Dubrunfaut a donné un moyen purement chimique de séparer le glucose du lévulose dans le sucre interverti. On dissout 10 grammes de sucre interverti dans 50 grammes d'eau, et on traite le tout à froid par 6 grammes de chaux hydratée. Le mélange, d'abord assez fluide, se prend bientôt en masse, par suite de la cristallisation du lévulosate de chaux, tandis que le glucosate de chaux reste dans les eaux mères. On exprime, ou mieux on turbine la masse, ce qui se fait assez facilement en l'enfermant dans un sachet de flanelle mouillée, qu'on place sur un couvercle creux de toile métallique, fermant un vase muni d'une anse solidement attachée. On attache l'anse à une corde et on donne au tout un mouvement rapide de rotation. On obtient ainsi une partie liquide et une partie solide qu'on décompose séparément par l'acide carbonique, après les avoir dissoutes dans une quantité d'eau suffisante. La première fournit une dissolution de glucose qu'on peut amener à cristalliser en la concentrant, l'autre fournit une solution de lévulose qui est absolument incristallisable.

Ce moyen de séparation, excellent pour démontrer que le sucre interverti peut se partager en deux sucres de rotations contraires, est trop imparfait pour permettre d'en trouver les proportions. On n'a, pour admettre, comme on le fait d'ordinaire, qu'ils sont en proportions égales, que les résultats incertains encore de la saccharimétrie optique, qui montre que le pouvoir rotatoire, — 25°, du sucre interverti, est à peu près la moyenne des pouvoirs rotatoires inverses du glucose et du lévulose. Mais l'argument manque de solidité ; car d'abord on ne peut affirmer qu'on connaisse le glucose et le lévulose purs, et par suite leurs pouvoirs rotatoires. De plus, le pouvoir rotatoire de ce qu'on appelle sucre interverti semble pouvoir varier à la même température. D'après M. Maumené, il est de — 42°, et d'après von Lippmann de — 44°.

Il faut admettre, je crois, qu'il y a sucre interverti et sucre interverti. Dans des expériences dans lesquelles je faisais agir sur du sucre de cannes dissous dans de l'eau distillée, de la sucrase d'aspergillus niger, j'ai observé la formation d'un sucre interverti, doué d'un pouvoir rotatoire gauche, et qui se prenait en masse par cristallisation, au lieu de laisser, comme tous les sirops de fruits, cristalliser le glucose dans un sirop incristallisable de lévulose.

A ces incertitudes sur la véritable constitution du sucre interverti viennent se joindre celles qui résultent de la présence possible et même probable, dans les dissolutions de sucre interverti que l'on soumet à la fermentation, du sucre

neutre dont nous parlions tout à l'heure. Ce sucre, réducteur de la liqueur de Fehling, comme le sucre interverti, en précède la formation dans toutes les actions qui lui donnent naissance, par exemple, sous l'influence de la levure de bière, d'après M. Gayon, et même sous celle des divers microbes producteurs de sucrase. Les premières portions de sucre qui subissent l'action de la sucrase restent neutres, et ce n'est que lorsque la proportion de sucre inactif ainsi produite dépasse une certaine limite, variable entre 10 et 15 p. 100, d'après M. Gayon, que le pouvoir rotatoire à gauche se manifeste, jusqu'au moment où le sucre est complètement interverti.

Cette observation fait évidemment dériver le sucre interverti du sucre neutre; et puisque nous avons vu plus haut que le sucre interverti est un mélange de dextrose et de lévulose, il est probable qu'il en est de même pour le sucre inactif.

On arrive à la même conclusion en partant d'une expérience de M. Horsin-Déon. En introduisant dans de l'alcool absolu bouillant, acidulé par de l'acide chlorhydrique, du sucre additionné de la quantité d'eau rigoureusement nécessaire pour suffire à sa transformation en glucose, on trouve que le sucre s'intervertit en restant neutre. L'évaporation rapide, dans le vide sec, de cette solution alcoolique, donne une masse incolore qui, redissoute dans l'eau, reste neutre, tandis que si l'évaporation est lente, et se fait à l'air humide, on a du sucre interverti normal.

Enfin, on peut encore faire l'inverse et revenir au sucre inactif en partant du sucre interverti. Pour cela, il suffit de dissoudre ce dernier dans l'alcool fort, et de le précipiter par l'éther. On obtient un corps neutre au saccharimètre.

Tous ces faits rapprochent les deux sucres, qui sont sans doute identiques de constitution, et ne diffèrent que par le pouvoir rotatoire variable d'un de leurs éléments, le glucose, qui conserverait, d'après l'interprétation que nous avons citée de M. Horsin-Déon, dans l'alcool et le sucre neutre, le pouvoir rotatoire élevé qu'il possède aux premiers moments de sa dissolution dans l'eau, et qu'il y perd peu à peu pour aboutir, peut-être par un phénomène d'hydratation, à son pouvoir rotatoire ordinaire de — 56°. Notons pourtant que cette idée d'hydratation est en contradiction avec les résultats de M. Gayon, qui voit le sucre interverti normal se former au moment où la liqueur est déjà riche en sucre neutre, et où par conséquent la quantité d'eau libre est moins grande qu'à l'origine. Il y a bien plutôt là, ce semble, une question d'arrangement moléculaire qu'une question d'hydratation.

Quoi qu'il en soit, nous devons envisager le sucre neutre et le sucre interverti comme de même composition. Mais nous savons encore moins pour le premier que pour le second en quelles proportions sont mélangés ses deux éléments constituants. Ces proportions sont égales si l'on accepte l'interprétation de M. Horsin-Déon. Mais cette interprétation est hypothétique, et l'argument tiré de la transformation en sucre interverti n'est pas probant, car pour ce dernier, l'égalité des proportions n'est pas démontrée, comme nous l'avons vu plus haut.

Il peut donc se faire que le sucre candi, quand on l'intervertit, se dédouble en dextrose et en lévulose en proportions variables, donnant naissance dans quelques cas à la neutralité optique, dans d'autres, aux pouvoirs rotatoires variables

du sucre interverti. On pourra accorder, si l'on veut, à quelques-uns de ces mélanges une stabilité particulière, mais la formule que nous venons d'écrire n'en est pas moins la formule la plus générale résumant les faits connus, et ce serait tromper sur l'état actuel de la science que de lui donner une forme plus précise, et de l'énoncer sous forme de loi.

Ajoutons enfin, comme dernier obstacle, que M. J. Boussingault a constaté dans le jus de cerises et d'autres fruits, deux sucres réducteurs, l'un fermentescible, et l'autre résistant à l'action de la levure.

Action des levures sur le sucre neutre et le sucre interverti. — Les notions que nous venons d'établir ne simplifient pas, on le comprend sans peine, l'étude de la façon dont se comportent, sous l'action de la levure, soit le sucre de cannes, soit le sucre neutre, soit le sucre interverti. Les résultats confus qu'on a obtenus dans cette étude, et que nous avons constatés dans le travail de M. Dubrunfaut, tiennent en partie à ce qu'on s'est placé dans des conditions trop complexes lorsque, comme on l'a presque toujours fait, on a mis de la levure dans une solution de sucre candi pour en comparer, à diverses époques, le pouvoir rotatoire et la teneur en alcool.

Il y a d'abord un premier effet qu'il serait sage d'éliminer tout de suite, c'est l'interversion exercée sur le sucre, qui, comme nous le savons par l'exemple de l'aspergillus, n'est pas instantanée, qui en outre, comme nous venons de le voir, n'est pas régulière. Il sera meilleur, quand on voudra voir lequel est consommé le premier, du glucose ou du lévulose, de commencer par les préparer et les mettre à l'état soit de sucre neutre, soit, ce qui est préférable, de sucre interverti normal, qui forme un système plus en équilibre que l'autre.

Nous avons vu en outre, dans l'histoire de l'aspergillus, que, lorsque les cellules vivantes étaient nombreuses et en plein développement, elles consommaient d'une façon à peu près indifférente les aliments à leur portée. La sélection est au contraire plus marquée quand la vie débute ou qu'elle est difficile. Il sera donc préférable, quand on voudra étudier les levures, de les semer en petites quantités et dans un milieu point trop favorable à leur développement.

Quelle que soit la cause de l'insuccès, il est certain que les expériences faites depuis M. Dubrunfaut sur la fermentation élective des deux éléments du sucre interverti n'ont apporté aucun résultat plus précis que ceux de ce savant. On voit, en suivant à l'aide du polarimètre la marche de la fermentation dans une solution de sucre de cannes sous l'influence de la levure, la rotation, primitivement droite, augmenter à gauche jusqu'à une certaine valeur, et diminuer ensuite en se rapprochant de zéro. Si l'on compare la rotation à la quantité d'alcool produite, on peut bien conclure que le dextrose est détruit en premier lieu, et le lévulose en dernier; mais l'attaque de ce dernier ne commence-t-elle que lorsque le dextrose a disparu, ou bien y a-t-il à un certain moment attaque des deux sucres à la fois, comme nous avons vu l'aspergillus brûler simultanément, vers la fin de sa végétation sur le liquide Raulin, le sucre restant et l'acide oxalique produit à l'origine? C'est ce qu'on ne sait pas encore.

Expériences de M. Gayon. — Le même procédé opératoire, appliqué

à l'étude du mode de destruction du sucre neutre, serait tout à fait infécond, parce qu'on n'a jamais fait fermenter ce sucre isolé, et qu'il a toujours été employé mélangé en petites proportions avec une grande quantité de sucre cristallisable; ce sont là les conditions dans lesquelles on le trouve dans le commerce et l'industrie. Mais la fermentation de ce mélange sous l'action de la levure de bière constitue un phénomène complexe, d'où on ne peut rien tirer au sujet de l'action subie par le sucre inactif.

Heureusement M. Gayon a réussi à faire fermenter uniquement le sucre inactif dans ce mélange, en laissant intact le sucre de cannes. Il a utilisé pour cela la propriété que nous connaissons déjà au *mucor circinelloïdes* de vivre à côté du sucre cristallisable sans le transformer, parce qu'il ne sécrète pas de sucrase.

Un mélange de sucre cristallisable et de sucre inactif a un pouvoir rotatoire dû au premier seul, et qui doit se retrouver à la fin de la fermentation tel qu'il est au commencement. Si le sucre inactif qui fermente est une espèce unique, consommée en bloc par le mucor, le pouvoir rotatoire de la liqueur ne changera pas pendant toute la durée de l'action. S'il est au contraire un mélange de dextrose et de lévulose, il y a des chances pour que ces deux sucres ne soient pas consommés en même temps. Si c'est le dextrose qui est consommé le premier, la rotation de la liqueur décroîtra vers la gauche. Elle décroîtra vers la droite si c'est le lévulose qui est atteint tout d'abord. Dans les deux cas, le pouvoir rotatoire, pendant la fermentation, variera pour revenir à la fin à sa valeur primitive. Voici ce qu'indique à ce sujet l'expérience.

On ensemence avec de la levure de *mucor circinelloïdes* une liqueur donnant 34° de rotation au saccharimètre Laurent et contenant 5,66 p. 100 de sucre cristallisable et 8,04 p. 100 de sucre neutre. La fermentation, étudiée à divers intervalles, a donné les nombres suivants pour la rotation et la proportion de sucre inactif;

	1er jour.	3e jour.	5e jour.	9e jour.	12e jour.	15e jour.
Rotation droite.......	34,0	30,0	24,0	24,0	30,0	35,0
Sucre réducteur (p. 100)..	8,0	7,1	5,6	2,3	1,9	1,1

On voit bien que le sucre réducteur n'est pas une espèce unique, mais qu'il est formé de deux éléments de rotation inverse, dont le droit disparaît le premier, le gauche le dernier. Mais pas plus ici que dans le sucre interverti, nous ne pouvons décider si le lévulose n'est atteint qu'après disparition complète du dextrose, ou bien si, à un certain moment, les deux sont attaqués en même temps. C'est là une question à étudier de plus près qu'on ne l'a fait jusqu'ici.

BIBLIOGRAPHIE

Lavoisier. — Mémoire sur la fermentation spiritueuse. *Œuvres*, t. I.
Gay-Lussac. — Mémoire sur la fermentation. *Ann. de chimie*, t. LXXVI, 1810.
— Lettre à M. Clément. *Ann. de chimie*, t. XCV, 1815.
Dumas et Boullay. — *Ann. de ch. et de phys.*, t. XXXVII, 1828.

Dubrunfaut. — Sur une propriété analytique des fermentations alcoolique et lactique. *Ann. de ch. et de phys.*, 3e série, t. XXI, 1847.

— Méthode de séparation du lévulose et du sucre interverti. *Comptes rendus*, t. LXIX, p. 1366.

Maumené. — Faits observés sur le sucre interverti. *Comptes rendus*, t. LXIX, p. 1242.

U. Gayon. — Sur la constitution du glucose inactif des sucres bruts de cannes et des mélasses. *Comptes rendus*, t. LXXXVII, p. 407.

P. Horsin-Déon. — Du sucre neutre et du sucre interverti. *Bull. de la Soc. chim.*, t. XXXII, p. 121, 1879.

U. Gayon. — Sur le glucose inactif ou sucre neutre. *Bull. de la Soc. chim.*, t. XXXIII, p. 253.

Horsin-Déon. — Du sucre neutre et du sucre interverti. *Bull. de la Soc. chim.*, t. XXXIII, p. 256.

U. Gayon. — Recherches sur la formation du sucre réducteur dans les sucres bruts de cannes, *Ann. agronomiques*, 1880, p. 96.

J. Boussingault. — Sur la fermentation des fruits à noyau. *Ann. de ch. et de phys.*, 4e série, t. VIII, XI et XXVI.

CHAPITRE XXX

CIRCONSTANCES QUI FAVORISENT OU ENTRAVENT LA FERMENTATION ALCOOLIQUE

Il ne suffit pas, pour avoir une fermentation régulière, de fournir à la levure les aliments minéraux, azotés, et hydrocarbonés qu'elle préfère, il faut encore l'entourer de certaines conditions physiques et chimiques que nous allons apprendre à connaître en passant en revue l'effet de divers agents sur la levure. Nous commencerons tout naturellement par les agents physiques.

Action de la pression. — D'après M. Melsens, la levure peut supporter une pression de 8.000 atmosphères sans perdre son pouvoir ferment. Cela ne veut pas dire qu'une fermentation pourrait se produire sous cette pression énorme, pour laquelle l'acide carbonique serait liquide, mais seulement qu'une levure exposée à cette pression s'est montrée vivante lorsqu'on l'a réensemencée dans un liquide sucré.

La fermentation peut commencer et se poursuivre à une pression très faible. D'après M. L. Mach, elle est même plus active qu'à la pression ordinaire. A une pression supérieure à 760 millimètres, elle marche au contraire plus lentement; mais les variations sont faibles.

Action de la chaleur. — Nous allons trouver sur ce sujet, qui a été très étudié, une foule de résultats en désaccord et même contradictoires, parce que la plupart des expérimentateurs, ou bien ont opéré dans des conditions différentes, sur de la levure en pâte ou de la levure en suspension dans un liquide, par exemple, ou bien n'ont pas fait attention à la réaction neutre ou acide de la liqueur chauffée, ce qui a une grande influence sur le résultat.

Hoffmann a vu la levure périr entre 76 et 83° lorsqu'il la chauffait à l'état humide, mais il affirme que, bien sèche, elle peut être portée à 215° sans périr. Elle ne produit plus, il est vrai, de fermentation alcoolique, mais elle croît encore sous forme rameuse. Cette observation me semble absolument inexacte.

Wiessner fixe à 66°,5 la température de la mort de la levure quand on la prend très fraîche. Si on la laisse séjourner quelque temps dans l'eau, ce qui augmente la grosseur de ses vacuoles, elle ne meurt qu'à 2 ou 3 degrés plus haut. Ses vacuoles disparaissent alors, et leur contenu se répand en fines goutte-

lettes dans toute la masse protoplasmique. Cet aspect est, d'après Wiessner, caractéristique de la mort du globule.

Quand la levure est sèche, on peut la chauffer des heures à 100° sans la tuer complètement. Les cellules à vacuoles périssent, les jeunes, qui n'en ont pas encore, résistent, et, portées dans une solution sucrée, peuvent encore la faire fermenter.

Quand la levure n'est pas complètement sèche, et qu'on la chauffe sans la mettre en suspension dans un liquide, on peut provoquer, à des températures beaucoup plus basses que tout à l'heure, cette disparition des vacuoles que nous indiquions plus haut. On l'observe chez un grand nombre de cellules après un long chauffage à 35 et même à 29° : températures pourtant très favorables à la fermentation. Elle existe chez toutes à 45°. Toutefois, rien ne dit que, dans ces conditions nouvelles, cet aspect accompagne la mort de la levure.

En effet, d'après d'autres observations faites dans le laboratoire de Wiessner par M[lle] Marie Manassein, la levure fraîche, en masse, a pu supporter une demi-heure à trois quarts d'heure de chauffage à 45°,5, et même à 60°, sans périr.

A 70°, elle se liquéfie en laissant exsuder rapidement son eau. Enfin, chauffée quinze minutes à 70-72°, elle meurt.

Desséchée à l'air et contenant encore 13 p. 100 d'eau, elle a pu être portée à 100°, et même à 130°, pendant sept à vingt minutes, sans périr. Elle n'est tuée qu'à 140°. Un long chauffage à 115-120° conduit au même résultat. Il est vrai que M[lle] M. Manassein affirme que cette levure, qui lui a paru morte parce que ses vacuoles avaient disparu et qu'elle ne pouvait plus bourgeonner, pouvait encore exciter la fermentation alcoolique, et cela, même encore portée à 258°. Mais toute cette partie de son travail ne mérite aucune créance. L'alcool trouvé dans ces conditions provenait sans doute de celui que la levure apporte toujours avec elle; et, en outre, la réaction de Lieben, employée pour le déceler, n'est pas, comme nous l'avons dit, caractéristique de l'alcool, de sorte qu'il y a là au moins deux causes d'erreur, infirmant d'avance les résultats.

Cette mise en suspicion légitime de la dernière partie du travail de M[lle] M. Manassein rend un peu douteuse encore l'affirmation relative à l'innocuité d'une température de 130°; mais les autres résultats sont assez d'accord, soit avec les faits généraux de l'histoire des microbes, soit avec les conclusions de la pratique industrielle, qui apprend qu'un chauffage à 60° dans un liquide à peu près neutre comme la bière, ou à 55° dans un liquide acidulé comme le vin, a pour effet d'y supprimer toute fermentation ultérieure.

Action du froid. — Nous avons vu que Cagniard-Latour avait exposé de la levure à — 60° sans la tuer. M. Melsens est allé ensuite jusqu'à — 90°. Enfin M. Schumacher a trouvé qu'elle était encore vivante après avoir été soumise à — 113° dans un mélange d'acide carbonique solide et d'éther. Même en faisant la part des causes d'indécision dans la fixation de ces températures, et des causes nombreuses d'erreur de ces expériences, on peut conclure que la levure résiste sans mourir à des froids excessifs.

Action de la température sur les fermentations. — Dans tout ce qui précède, il n'a été question que de l'action de la chaleur sur le vé-

gétal levure. Tout autres seront nos conclusions si nous cherchons seulement entre quelles limites peut s'accomplir une fermentation.

Ainsi, à la température de la glace fondante, l'action de la levure sur le sucre est déjà à peu près nulle. Même les levures habituées à agir au voisinage de 0°, comme par exemple celles qui servent à la fabrication des bières viennoises, perdent au bout de peu de temps, à cette température, la faculté d'exciter de nouvelles fermentations, et ont besoin, comme nous le verrons, d'être revivifiées de temps en temps par la chaleur.

Les limites ordinaires des fermentations industrielles sont 2 à 3° au minimum pour les bières basses, 25 à 30° au maximum pour les distilleries. D'après M. A. Mayer, la fermentation est déjà pénible à 51-54°. MM. Blankenhorn et Moritz, qui ont soigneusement étudié l'influence de la température sur la fermentation du moût de raisin, n'ont pu rien obtenir à 55°. A 45°, il n'y avait fermentation que lorsque la température avait été amenée insensiblement à ce degré. Portée immédiatement à 45°, ou même à 40°, la levure restait inerte, et ne devenait capable d'agir que lorsqu'on abaissait la température.

La question de savoir quelle influence la pression, le froid ou la chaleur ont sur les produits de la transformation du sucre, est distincte de celle que nous traitons ici, et on ne sait, du reste, que peu de chose sur elle. C'est en général à la température à laquelle une fermentation marche le mieux qu'elle est la plus complète. Plus au chaud ou plus au froid, il reste du sucre. Il ne paraît pas que les produits de la fermentation puissent varier. Les résultats qu'on a annoncés sur la production d'aldéhyde à une pression inférieure à la pression ordinaire sont loin d'être certains. Mais il peut très bien se faire que les proportions d'alcool et d'acide carbonique ne soient pas les mêmes à toutes les températures ou à toutes les pressions. Il y aurait là un intéressant sujet d'études.

Action de l'électricité. — Des nombreuses expériences faites pour savoir si l'électricité dynamique favorise ou retarde la fermentation, il n'y a rien à conclure, tant elles ont été ou grossières, ou mal conduites, ou contradictoires.

A propos de l'électricité statique, on sait, par M. Dumas, qu'une série d'étincelles d'une puissante machine de Holtz, et aussi les étincelles provenant d'une forte bobine de Ruhmkorff ne modifient en rien l'activité de la levure de bière.

Action de la lumière. — Les renseignements un peu vagues qu'on a sur l'action de la lumière se résument en ceci, que la marche des fermentations est plus lente dans l'obscurité. Mais les causes d'erreur dans l'étude de ce phénomène sont si nombreuses qu'on ne saurait considérer le fait comme démontré. C'est une question à reprendre.

Influence de l'eau. — Wiessner est arrivé à quelques résultats intéressants en étudiant les relations réciproques qui s'établissent, par voie d'endosmose, entre la levure et le liquide où elle baigne. D'après lui, les cellules de levure, pour produire la fermentation, doivent renfermer une quantité minimum d'eau comprise entre 40 ct 80 p. 100, suivant la nature et la constitution du liquide fermentescible. Plus ce liquide est sucré, moins il reste d'eau dans la levure. Dans une liqueur très concentrée, la levure ne contient guère que 25 p. 100

d'eau. Du moins, de la levure à ce taux d'humidité ne subit aucun changement apparent quand on l'introduit dans un sirop de sucre.

La mort n'arrive que lorsque la teneur en eau tombe au-dessous de 13 p. 100, et elle est précédée de certains phénomènes que révèle l'examen microscopique. A l'état normal, les cellules un peu vieilles contiennent de 1 à 3 vacuoles bien limitées. Si on leur enlève de l'eau, en les chauffant fort ou vite, ou en ajoutant de l'alcool, du sirop de sucre, ou des solutions concentrées de sel, les vacuoles disparaissent, le protoplasma devient granuleux, se contracte et se sépare de l'enveloppe extérieure. Les cellules très jeunes, qui ne présentent de vacuoles que lorsqu'elles se sont formées dans une solution de sucre à plus de 8 p. 100, montrent la même contraction du protoplasma. Sous cet état, toutes les cellules sont mortes. Si on a enlevé l'eau plus graduellement, quelque soit le moyen employé pour cela, la levure passe par un état intermédiaire, sous lequel ses vacuoles ont disparu, le protoplasma s'est concentré, et les cellules sont devenues un peu plus petites. A cet état, la levure n'est pas morte, mais elle ne peut produire une fermentation que dans un liquide où elle peut reprendre ses vacuoles.

L'activité de la fermentation produite par les cellules dépend de leur richesse en eau. Elle est nulle dans les liqueurs concentrées. Elle est maximum, d'après Wiessner, dans les liqueurs à 2-4 p. 100 et à 20-25 p. 100 de sucre. Ce résultat est singulier, et plus singulier encore cet autre que les liqueurs à 2-4 p. 100 de sucre donnent proportionnellement moins d'acide carbonique que les solutions à 20-25 p. 100. Il est sans doute intervenu dans les expériences de Wiessner une cause d'erreur qu'il n'a pas aperçue.

Action des quantités de levure et du temps. — La fermentation étant un phénomène placé sous la dépendance de millions d'organismes microscopiques, on peut s'attendre à retrouver pour elle la loi de proportionnalité inverse entre les quantités de levure employée et les temps de l'action, que nous avons déjà constatée quand nous avons étudié les diastases. M. Dumas s'est, en effet, assuré qu'il en était ainsi ; et il suffit, pour vérifier la loi, de mettre de grandes quantités de levure en présence du sucre, de façon que les centres d'action soient aussi multipliés que possible, puis, que les conditions de vitalité de chacun des globules ne soient pas modifiées par la présence en trop fortes quantités des produits de la réaction.

Avec le glucose, M. Dumas a reconnu, sur quatre essais simultanés, que 40 grammes de levure en avaient fait disparaître, en seize minutes au plus, 1 gramme dissous dans 200 fois son volume d'eau environ.

Avec le sucre candi, l'expérience a marché avec la même régularité, mais la transformation a demandé plus longtemps. La destruction de 1 gramme de sucre de cannes par 40 grammes de levure de bière a duré trente-quatre minutes. Comme la levure mise en usage dans les deux séries d'expériences était la même, on peut conclure que, dans les conditions où M. Dumas s'est mis, il faut à la levure autant de temps pour intervertir le sucre de cannes que pour le convertir ensuite en alcool et en acide carbonique. Remarquons pourtant que l'interversion du sucre dépend de la quantité de diastase, qui peut être plus ou moins abondante

dans une levure, suivant qu'elle est plus ou moins vieille, plus ou moins essorée, de sorte que ce qui est vrai pour la levure employée par M. Dumas ne le serait peut-être pas pour toutes.

Les faits ci-dessus règlent la question de régularité du phénomène, lorsqu'il s'accomplit dans les mêmes conditions de mise en train. Puisque nous pouvons compter sur cette régularité, étudions l'influence des quantités de sucre et de levure.

En ajoutant à des liquides semblables, renfermant, par exemple, 150 centimètres cubes d'eau et 10 grammes de levure, des quantités de sucre représentées par 0gr,5, 1 gramme, 2 grammes, 4 grammes, M. Dumas a trouvé que les temps nécessaires à la fermentation du sucre étaient les suivants :

		Rapports.
Pour 4 grammes de sucre......	430 minutes	4
2 —	215 —	2
1 —	108 —	1
0gr,5 —	55 —	0,5

Ainsi, dans des circonstances identiques, la levure étant en excès, la durée de la fermentation est proportionnelle à la quantité de sucre.

La régularité de ces phénomènes est donc très grande. Elle étonne moins, dit M. Dumas, lorsqu'on se rend compte de la multitude des corpuscules qui, intervenant dans leur production, doivent déterminer une moyenne générale uniforme, quelques différences individuelles qu'on puisse supposer entre eux.

En recherchant, en effet, quel pouvait être le nombre de cellules compris dans les 10 grammes de levure de l'expérience ci-dessus, M. Dumas a trouvé qu'il était compris entre 20 et 30 milliards. On peut donc dire qu'il faut 20 à 30 milliards de cellules pour détruire, par minute, 1 centigramme de sucre et produire 5 milligrammes environ d'alcool.

Ces nombres énormes font naître une réflexion qui trouve bien sa place ici. La transformation, en une minute, de ce centigramme de sucre candi en sucre incristallisable exige, comme nous l'avons vu, un poids de sucrase qui n'est que d'une fraction de milligramme. On voit que chaque cellule n'a besoin que de sécréter cette sucrase en proportions infinitésimales. On voit de plus, par la différence énorme des poids de matière nécessaire pour produire dans le même temps les deux phénomènes d'inversion du sucre d'abord, de fermentation alcoolique ensuite, quelle différence profonde il y a entre eux, et combien le mécanisme du second doit être plus compliqué que celui du premier.

Nous allons pouvoir maintenant étudier l'influence favorable ou retardatrice de diverses substances sur la fermentation alcoolique. Voici tout d'abord, sur ce sujet, les résultats d'un important travail de M. Dumas.

Action des gaz sur la fermentation. — On sait que la levure peut supporter, sans perdre son pouvoir, le contact de l'acide carbonique et celui de l'air. Elle n'y est à coup sûr pas indifférente, nous l'avons vu. Le contact de l'air favorise son bourgeonnement ; et sans que cela ait été prouvé, on peut dire qu'elle redoute le contact de l'acide carbonique ; mais enfin l'ac-

tion est faible avec l'un et avec l'autre. Comment se comportent les autres gaz?

M. Dumas a mis la levure de bière, en bouillie épaisse, en contact pendant trois jours avec les gaz suivants : oxygène, hydrogène, azote, oxyde de carbone, protoxyde d'azote, hydrogène protocarboné. Les levures, mises ensuite en contact avec une solution de sucre, se sont comportées comme la même levure laissée à l'air. La levure qui avait séjourné dans l'hydrogène a paru peut-être un peu plus paresseuse; celle qui avait séjourné dans le protoxyde d'azote, un peu plus active; celle qui avait été en contact avec les gaz des marais exhalait un peu l'odeur des matières animales avancées. Mais toutes ont produit une fermentation régulière et, examinées au microscope, n'ont montré aucune différence.

Action des métalloïdes. — L'action de la levure ne produit pas d'ozone. Elle ne suscite aucun phénomène d'oxydation ou de combustion. On peut dire qu'elle est un peu hydrogénante, en se fondant sur ce fait que du soufre en fleurs, mêlé à une fermentation, donne, mélangés à l'acide carbonique, quelques centièmes d'hydrogène sulfuré répandant l'odeur d'oignon. Les autres métalloïdes que le soufre ne s'associent pas aux réactions du ferment. Le chlore, le brome et l'iode se changent en acides chlorhydrique, bromhydrique et iodhydrique dans un liquide en fermentation, mais par une action indépendante, car on sait qu'ils peuvent prendre directement l'hydrogène aux substances organiques.

Action des acides. — La levure de bière a toujours une réaction acide. Si on essaie de la faire disparaître en ajoutant de l'eau de chaux, par exemple, on reconnaît que la neutralité obtenue n'est que momentanée. La réaction acide se manifeste de nouveau en moins de cinq minutes, et ce n'est qu'après trois ou quatre additions de la liqueur alcaline, amenant à chaque fois une neutralité provisoire, que celle-ci devient un peu stable.

L'équivalent du pouvoir acide de la levure fraîche, essorée sur plusieurs doubles de papier buvard, jusqu'à ce qu'elle devienne ferme et contienne environ 20 p. 100 de matière sèche, oscille entre $\frac{25}{10000}$ et $\frac{30}{10000}$ de son poids d'acide sulfurique monohydraté.

Cette acidité peut-elle être augmentée ou diminuée sans que le pouvoir de la levure en souffre, et la nature spécifique de l'acide employé a-t-elle ou non quelque influence sur le résultat? Pour résoudre ces deux questions, M. Dumas a essayé des acides sulfurique, sulfureux, azotique, phosphorique, arsénieux et borique, parmi les acides minéraux; les acides oxalique, acétique et tartrique, pour les acides organiques.

L'addition de l'un de ces acides, à faible dose, ne hâte ni le commencement de la fermentation ni sa fin. Quand on en ajoute beaucoup, il y a retard ou arrêt. En ajoutant 10 fois l'équivalent de l'acide contenu dans la levure, la fermentation devient traînante et s'arrête avant d'être terminée, lorsqu'il y a encore de grandes quantités de sucre candi à l'état interverti dans le liquide. Avec 100 équivalents, la fermentation ne commence pas. Cependant l'acide chlorhydrique et l'acide tartrique, même à cette dose, ne l'ont pas complète-

ment supprimée, et pour ce dernier, il a fallu en mettre 200 fois l'équivalent de l'acide de la levure pour arrêter la fermentation.

Action des bases. — M. Dumas a examiné la manière d'agir de la soude, de la potasse et de l'ammoniaque sur la levure, et leur effet sur la fermentation à diverses doses. Il suffira de préciser en ce qui concerne l'ammoniaque.

Cette base s'est montrée sans influence sur le commencement et la marche de la fermentation, tant que la quantité ajoutée a été au plus égale à 4 fois ce qu'il aurait fallu pour saturer l'acide de la levure. Avec 8 et 16 fois cette quantité, le commencement de la fermentation a été retardé de quelques heures. L'acidité a reparu dans les divers essais, mais les fermentations ont été d'autant plus incomplètes que l'alcalinité originelle était plus forte. Avec une quantité d'ammoniaque égale à 24 fois l'acide de la levure, il n'y a plus de fermentation. La présence de l'ammoniaque n'a pas amené dans les liqueurs qui ont le mieux fermenté la formation de l'acide nitrique ou de l'acide nitreux.

La chaux et la magnésie se comportent comme l'ammoniaque. On s'explique bien, d'après cela, l'emploi de la chaux, dans certains procédés industriels, pour la fabrication du sucre. Avec les bases saturant mal les acides, oxyde de zinc, oxyde de fer ou même litharge, la fermentation suit son cours régulier.

Ainsi les alcalis puissants tendent à arrêter la fermentation, mais ne la suppriment que lorsque la dose est assez forte. Il y a peut-être là une action de diastase; nous avons vu en effet que le sucrase n'agit pas dans un liquide un peu alcalin. Mais il y a aussi cette circonstance curieuse, que la levure peut produire ou excréter un acide capable de neutraliser les bases dont elle est entourée, et cela, dans une certaine mesure, en proportion de l'effet à produire.

Action des carbonates alcalins. — Il suffit, dans les expériences où on met la levure en contact avec un alcali, que la fermentation puisse commencer et dégager un peu d'acide carbonique, pour qu'elle continue sans difficulté. Une fois l'alcali carbonaté, il en faut de beaucoup plus fortes quantités pour retarder ou arrêter la fermentation. Avec 10 grammes de levure, 10 grammes de carbonate de soude et 200 centimètres cubes d'eau sucrée au dixième, la fermentation a marché à peu près comme à l'ordinaire. Mais avec 70 grammes de carbonate de soude, il n'y a eu ni interversion ni fermentation.

Avec le sous-carbonate de magnésie, on peut faire une expérience curieuse. Le sel est alcalin, mais peu soluble; il ne gêne donc pas le commencement de la fermentation, et à mesure qu'elle marche, le sel absorbe l'acide carbonique et devient bicarbonate soluble qui est sans action. Il ne se dégage donc pas de gaz, mais la liqueur filtrée se trouble à l'air et à l'ébullition, en dégageant son acide carbonique et déposant du carbonate de magnésie hydraté.

La craie se comporte de la même manière, mais la faible solubilité relative du bicarbonate de chaux rend le phénomène moins frappant.

Action des sels. — Voici comment M. Dumas a étudié l'action des sels. On prépare des solutions saturées de chacun de ces sels et on met ces solutions en contact avec de la levure de bière bien essorée, dans le rapport de 30 à 40 grammes de solution pour 1 gramme de levure. Après trois jours, on décante

la solution saline et on la remplace par une solution de sucre pur, au dixième.

L'effet qu'on observe dans ces conditions est évidemment complexe. Il y a d'abord l'action subie par la levure, qui tantôt ressort de la solution saline comme elle serait ressortie de l'eau pure, tantôt s'y contracte, s'en sépare plus ou moins vite, peut même se précipiter au fond, comme le ferait du sable fin, et crier sous le doigt, comme de la fécule; tantôt enfin s'y caillebotte et s'y prend en grumeaux cohérents qui se laissent difficilement écraser entre deux plaques de verre.

L'effet produit en mettant au contact d'une solution sucrée cette levure modifiée dans ses propriétés ne peut pas être assimilé à celui qu'on observerait en mettant en présence à la fois le sel, la levure et le sucre. En opérant, comme nous venons de le dire, avec le tartrate de potasse, la fermentation s'établit et marche avec activité, et le liquide fermenté se trouble par la chaleur et l'acide nitrique, comme s'il renfermait de l'albumine en solution. On a aussi une fermentation très régulière en mettant en contact, simultanément, le tartrate de potasse, le sucre, la levure de bière et l'eau, mais le liquide fermenté ne donne plus de précipité par la chaleur. Il s'est produit dans le premier cas une action complexe, par suite de l'endosmose et de l'exosmose successives de la solution saline, et la différence des réactions du liquide fermenté traduit à la fois les différences apportées par l'osmose et celles qui résultent de ce que la quantité de tartrate de potasse, présente pendant la fermentation, n'est pas la même dans les deux cas.

Quoi qu'il en soit, le procédé opératoire de M. Dumas permet de classer les sels en plusieurs catégories : 1° ceux qui favorisent la fermentation, ou du moins lui laissent parcourir son cours tout entier sans contrariété; 2° ceux qui retardent la fermentation et la rendent incomplète, en laissant comme résidu du sucre interverti; 3° ceux qui ne permettent pas à la fermentation de s'établir, tout en permettant l'interversion du sucre; 4° ceux qui empêchent à la fois l'interversion et la fermentation.

Voici, parmi les sels étudiés, ceux qui appartiennent aux diverses catégories :

1° Fermentation totale du sucre, plus ou moins rapide :

Sulfate de potasse.	Phosphate de soude.
Chlorure de potassium.	Sulfate de soude.
Phosphate de potasse.	Bisulfite de soude
Sulfovinate de potasse.	Pyrophosphate de soude.
Sulfométhylate de potasse.	Lactate de soude.
Hyposulfate de potasse.	Phosphate d'ammoniaque.
Hyposulfite de chaux.	Sulfate de magnésie.
Formiate de potasse.	Chlorure de calcium.
Tartrate de potasse.	Sulfate de chaux.
Bitartrate de potasse.	Chlorure de strontium.
Sulfocyanure de potassium.	Alun.
Cyanoferrure de potassium.	Sulfate de zinc.
Cyanoferride de potassium.	Sulfate de cuivre au $\frac{1}{40000}$.

2° Fermentation partielle du sucre, plus ou moins ralentie :

Bisulfite de potasse.	Arséniate de potasse.
Nitrate de potasse.	Sulfite de soude.
Butyrate de potasse.	Hyposulfite de soude.
Iodure de potassium.	Hyposulfite de potasse.

Borax.	Sel de Seignette.
Savon blanc.	Chlorure de baryum.
Nitrate d'ammoniaque.	Protosulfate de fer au $\frac{1}{350}$.
Tartrate d'ammoniaque.	Protosulfate de manganèse au $\frac{1}{350}$.

3° Interversion plus ou moins avancée du sucre, sans fermentation :

Azotite de potasse.	Sel marin.
Chromate de potasse.	Acétate de soude.
Bichromate de potasse.	Sel ammoniac.
Nitrate de soude.	Cyanure de mercure.

4° Ni interversion ni fermentation :

Acétate de potasse.	Monosulfure de sodium.
Cyanure de potassium.	

Il est curieux de voir l'acétate de potasse arrêter l'interversion et la fermentation du sucre. L'effet n'est pourtant pas absolu pour l'interversion, ainsi qu'on pouvait s'y attendre avec ce que nous avons vu sur l'action de la sucrase. L'interversion a lieu dans des proportions très faibles, vers 28° ou 30°, et elle semble être plus marquée à 35°. Mais la fermentation ne commence à aucune température.

Parmi les sels du tableau ci-dessus, ceux qui, sans être des sulfates, renferment du soufre, présentent une particularité dans leur action sur la fermentation. Nous avons vu que le soufre, mêlé à la levure, fournit de l'hydrogène sulfuré. Les sulfite et hyposulfite de soude, le sulfocyanure de potassium donnent un liquide alcoolique qui, distillé en présence d'une dissolution de potasse, fournit un alcool donnant de l'aldéhyde et une matière odorante exhalant fortement l'odeur agréable des fruitiers. Cet alcool se trouble et devient laiteux par addition de l'eau. Le résidu de distillation dépose par refroidissement de la résine d'aldéhyde en abondance.

Avec l'hyposulfite de potasse, pendant le cours de la fermentation, il se dégage de l'hydrogène sulfuré mêlé à l'acide carbonique, et le produit qui accompagne l'alcool à la distillation exhale l'odeur de l'ail.

Le sulfate de cuivre, à la dose de $\frac{1}{40000}$, ne trouble pas la fermentation, comme cela est écrit au tableau de plus haut; mais, à $\frac{1}{2000}$, il détruit chez la levure le pouvoir ferment qu'elle possède.

Le moyen d'étude qui nous a fourni les renseignements qui précèdent est assez éloigné de ceux que réclame la pratique industrielle, qui a besoin surtout de connaître les substances dont l'introduction dans une liqueur fermentescible peut en empêcher la transformation. Il semble au premier abord que ce moyen d'investigation soit d'un emploi très facile, puisqu'il suffit théoriquement d'introduire, en diverses proportions, dans un liquide sucré, la substance à étudier, et de voir si elle permet ou arrête la fermentation.

Mais dans la pratique, quand on veut arriver à des conclusions débarrassées de toute contingence, précises et scientifiques, on rencontre des difficultés dont nous allons nous faire une idée en discutant quelques-unes des observations faites sur ce sujet.

Action de l'acide cyanhydrique. — D'après Liebig, une quantité infiniment petite de cet acide suffit pour ralentir et suspendre complètement la fermentation. Ce savant opérait sur des mélanges fermentescibles contenant 5 grammes de sucre, et une égale quantité de levure de bière lavée et purifiée par lévigation, le tout dans 100 centimètres cubes d'eau. A un ou plusieurs de ces mélanges on ajoutait la substance étrangère dont on voulait étudier l'action. Un autre, resté sans addition, servait de terme de comparaison. Ce sont bien les conditions que nous indiquions tout à l'heure, et il semble, au premier abord, que les résultats ne puissent rien laisser à désirer.

Voyons pourtant ce qu'ils disent. Dans un mélange où Liebig avait introduit l'équivalent de $0^{gr},018$ d'acide cyanhydrique anhydre, il a trouvé qu'au bout de seize heures, la quantité de sucre détruite était six fois plus faible que dans le mélange témoin, et qu'une «plus forte addition d'acide cyanhydrique empêchait complètement la fermentation de se produire ».

On doit penser *a priori* que l'action ne peut pas être indépendante de la proportion de levure. C'est en effet ce que l'expérience vérifie. Les doses d'acide cyanhydrique qui empêchent une fermentation de commencer se montrent impuissantes si on augmente la proportion de levure initiale. De même, M. Mayer a vu que les doses d'acide cyanhydrique qui arrêtaient une fermentation à son début restaient inactives lorsqu'on les ajoutait à une fermentation identique déjà en train, et où $\frac{1}{10}$ du sucre avait déjà fermenté, parce que, pendant cette fermentation préliminaire, le poids de levure présente avait augmenté.

Nous verrons bientôt que dans cette expérience de M. Mayer est intervenue une autre influence. Les globules jeunes, formés à l'origine de la fermentation, ne se comportent pas, vis-à-vis des substances introduites, comme des globules vieux, tels qu'on les obtient après lévigation et lavage. Ils sont plus résistants, et exigent des doses plus considérables de toxique. Mais sans insister pour le moment sur ce sujet, on voit combien d'incertitudes s'accumulent sur les résultats d'expériences en apparence bien conduites et très probantes.

La première observation sur les effets de l'acide cyanhydrique est due à Schönbein, et avait été le point de départ d'une série curieuse de déductions. Schlossberger avait montré qu'au contact de la levure de bière, une solution d'eau oxygénée se décompose rapidement avec un abondant dégagement d'oxygène. Une addition d'acide cyanhydrique suspend cette action, comme celle de la levure sur le sucre. D'un autre côté, du sang frais, pur ou étendu d'eau, dédouble aussi l'eau oxygénée, comme la levure, et se montre inactif comme elle, en présence de l'acide prussique. Si on ajoute à ces faits cet autre fait erroné, en général, mais que Liebig, qui l'a publié, peut bien avoir observé une fois, que le sérum pur, à l'état de concentration qu'il possède dans le sang, peut rester pendant des semaines inaltéré à l'air, tandis que du sang défibriné, c'est-à-dire un mélange de sérum et de globules, entre rapidement en fermentation putride, à moins qu'il ne soit additionné d'acide cyanhydrique, on comprendra qu'il ait été possible de rapprocher les phénomènes de fermentation et de putréfaction des phénomènes d'action de contact, et que Liebig n'ait pas dû négliger cet ordre

d'arguments dans son mémoire lu, en 1869, à l'Académie des sciences de Munich, et où il critiquait les théories de M. Pasteur.

Nous en savons déjà assez pour comprendre que cette assimilation est purement artificielle. S'il y a une propriété dans la levure qui soit assimilable à une action de contact, c'est celle qu'elle présente d'intervertir le sucre de canne. Or, sur cette propriété, l'acide cyanhydrique n'a aucune action. L'action sur l'eau oxygénée n'est, selon toute apparence, d'après les expériences de M. Gernez, qu'une action purement physique, que des corps inertes peuvent exercer tout aussi bien et même mieux que la levure. L'acide cyanhydrique, employé en quantité suffisante, tue la levure, arrête par conséquent du coup sa respiration et les échanges gazeux dont elle est le siège. Au microscope, on voit qu'elle perd ses vacuoles et que son protoplasma devient granuleux. Elle subit en somme, dans sa constitution physique et dans ses propriétés physiologiques, des altérations qui peuvent se traduire à l'extérieur par des phénomènes nouveaux, sans qu'on soit autorisé à voir dans ces phénomènes l'action d'une cause commune ou un lien plus étroit que celui qui résulte de ce qu'on les observe sur le même corps.

Action du chloroforme. — Liebig a encore étudié, par le procédé que nous avons indiqué plus haut, l'action du chloroforme. En ajoutant aux mélanges fermentescibles dont nous connaissons la composition, 30 centimètres cubes d'une solution filtrée de chloroforme dans l'eau chaude, exempte de gouttelettes en suspension, il a trouvé un retard, très accentué dans les premières heures, de plus en plus faible ensuite, du mélange avec chloroforme sur le mélange témoin. Le rapport entre les poids de sucre décomposés dans les deux liquides était de 0,14 au bout de dix-huit heures, de 0,55 au bout de vingt-cinq heures, de 0,92 au bout de quarante heures. La fermentation avec chloroforme, en retard sur l'autre tout d'abord, la rattrape donc assez vite.

On peut donc être surpris de cet autre résultat de Liebig, que quelques gouttes de chloroforme, ajoutées à 100 centimètres cubes de liqueur fermentescible, arrêtent complètement la fermentation. Il est clair qu'il ne doit y avoir encore qu'un retard. Je me suis en effet assuré qu'une fermentation, avec 5 p. 100 de sucre et 1 p. 100 seulement de levure pressée, était ralentie de moitié tout au plus par l'addition de 1 p. 100 de chloroforme.

Employé en cette proportion, le chloroforme est en excès, et reste en gouttelettes au fond du liquide. On ne gagne rien à en ajouter davantage. Comment donc Liebig a-t-il pu observer un arrêt complet de la fermentation? C'est sans doute que la levure dont il se servait était vieille et épuisée. La même levure que celle qui m'a servi dans l'expérience que je viens de citer, conservée huit jours, restait complètement inactive quand on la mettait dans un liquide sucré avec 1 p. 100 de chloroforme. L'âge et l'état de conservation de la levure doivent donc entrer en ligne de compte dans tous ces phénomènes.

Cette remarque nous autorise à insister sur le caractère contingent des autres résultats de Liebig, observés avec la même levure, et qu'il nous reste maintenant à résumer.

Action de la quinine, de la nicotine, de la strychnine, de

la créatine et de la créatinine. — De petites quantités de quinine ralentissent la fermentation, une plus forte proportion l'arrête complètement. Avec 0gr,2 de sulfate de quinine, la quantité de sucre détruit au bout de quarante-huit heures n'était que de 0gr,25, tandis que les 5 grammes de sucre du mélange témoin avaient disparu.

La nicotine, en solution neutre, semble accélérer un peu la fermentation, à peu près dans le rapport de 11 à 10.

La strychnine, employée en petites quantités, accélère d'abord la fermentation, puis la ralentit. Le ralentissement est plus prononcé si on augmente la dose du sel.

La créatine semble ralentir, la créatinine accélérer la fermentation. La créatine se transforme partiellement en créatinine.

Action du borate de soude. — Dans les expériences de M. Dumas, le borax est donné comme permettant une fermentation partielle du sucre, plus ou moins ralentie. Ce sel coagule, en outre, le protoplasma du globule. Malgré cette action puissante, la fermentation peut s'accomplir régulièrement en présence de doses assez considérables de ce sel, bien qu'avec une lenteur plus grande.

Avec 2 p. 100 de borax, j'ai vu la fermentation marcher environ deux fois moins vite qu'en l'absence de ce sel, mais elle finit par être complète. Elle est encore complète avec 4 p. 100 de borax. Si on augmente la proportion de levure, la dose de borax peut être aussi impunément augmentée. De sorte que ce qui est important dans tous ces phénomènes, ce n'est pas tant la proportion de la substance antifermentescible dans la liqueur que sa proportion vis-à-vis de la levure.

Nous venons de voir intervenir dans ces questions des influences diverses. Nous n'avons pourtant pas examiné encore toutes les influences qui peuvent entrer en jeu. Nous n'avons encore opéré que sur des liquides dont l'introduction de la substance fermentescible ne modifiait pas la réaction légèrement acide. Avec le borax, nous avons déjà l'intervention de l'alcalinité de la liqueur. Nous allons la voir apparaître plus nettement avec d'autres substances.

Action du silicate de soude. — MM. Rabuteau et F. Papillon ont observé, par exemple, que la fermentation du moût de raisin est complètement arrêtée par la présence de 1 à 2 p. 100 de silicate de soude. Mais, comme nous avons eu l'occasion de le faire observer, ce sel, pour entrer en solution dans l'eau, doit être fortement alcalin. Dès lors, il y a à se demander si son intervention certaine dans le phénomène de fermentation n'est pas dû à son alcalinité, et par conséquent, si la silice qu'il contient y joue un rôle quelconque. Ceci a de l'importance au point de vue théorique, parce que, tant que cette question n'est pas réglée, on n'a pas le droit de placer le silicate de soude à côté du borate de soude. Au point de vue pratique, si c'est la base qui agit, le sel ne produira pas le même effet sur une liqueur neutre comme la bière, ou sur une liqueur acide comme le vin ou les sirops de fruits.

MM. Rabuteau et Papillon ont opéré sur du moût de raisin, sans doute débarrassé de cellules de levure. S'il y a déjà de la levure dans le liquide, s'il y en a plus ou moins, comme elle sécrète naturellement une substance acide, il faudra

sans doute, pour arrêter la fermentation, changer les doses de silicate. Du moins M. Petit a vu que, en présence de $\frac{1}{100}$ de borax ou de silicate de soude, il n'y avait aucune entrave à l'achèvement de la fermentation d'une solution à 5 p. 100 de sucre, additionnée de 5 p. 100 de levure fraîche.

Le résultat obtenu avec le borax est, comme plus haut, en contradiction avec ceux de M. Dumas et d'autres expérimentateurs, mais la différence s'explique par la différence des modes opératoires. Les contradictions apparentes ne se bornent pas à celles que nous venons de signaler. M. Petit a vu la fermentation s'opérer lentement, mais régulièrement, avec une solution de sulfate de fer au centième. Avec le sulfate de cuivre, la fermentation s'est arrêtée au bout de quelque temps. L'ordre de ces deux corps employés dans ces proportions est inverse de celui que leur avait donné M. Dumas.

Action d'un certain nombre d'autres corps. — D'après MM. P. Bert et Regnard, l'eau oxygénée tue subitement la levure de bière, et la fermentation ne reprend pas, même après élimination de l'eau oxygénée par l'une des substances qni la détruisent le plus rapidement. Il y a là sans doute en jeu une question d'oxydation analogue à celle qu'exerce l'oxygène comprimé, et qui n'a aucun rapport direct avec la propriété, que nous avons signalée dans la levure, de pouvoir décomposer elle-même le peroxyde d'hydrogène.

Voici maintenant un court résumé de l'action d'un certain nombre d'autres corps. J'ai trouvé que l'éther, aux doses de 1 et 2 p. 100, est tout à fait sans action sur la levure. D'après M. Petit, le phosphore, l'essence de térébenthine (1 p. 100), la créosote à faible dose, la poudre de moutarde (1 p. 100), l'acide tartrique et l'acide sulfurique (1 p. 100), n'ont nullement entravé la fermentation. L'acide arsénieux à 1 p. 100 la ralentit, ainsi que l'acide malique à $\frac{1}{300}$. A dose égale, l'acide acétique paraît plus antifermentescible que les acides minéraux. Les corps les plus actifs, sous ce rapport, sont le sublimé corrosif et surtout l'oxyde rouge de mercure, dont 0,5 p. 100 suffisent à arrêter une fermentation très active.

Tous ces résultats sont évidemment encore contingents et dépendent dans une large mesure, et surtout le dernier, de la réaction neutre ou acide du liquide dans lequel la fermentation est établie.

On a un exemple très net de cet ordre de faits dans l'étude de l'acide salicylique. Neubauer avait montré, par des expériences sur du moût de vin, l'action antifermentescible très nette de l'acide salicylique sur le moût de raisin. Fleck avait ensuite révoqué en doute cette même action à la suite d'expériences faites sur du moût de bière. Neubauer a fait voir depuis qu'il n'y avait entre les résultats qu'une contradiction apparente, et que si l'acide salicylique, aux mêmes doses, empêchait la fermentation du vin et non celle du guillage de bière, c'est qu'il conservait son acidité dans le premier de ces liquides et la perdait dans le second. Kolbe avait montré, en effet, que l'acide libre est infiniment plus actif que ses combinaisons avec les bases. Comme contre-épreuve, il suffit d'ajouter au guillage de bière un peu d'acide chlorhydrique pour que l'addition d'acide salicylique le préserve de la fermentation comme le vin.

Enfin, nous pouvons emprunter au même travail de M. Neubauer quelques autres résultats montrant l'intervention dans ces phénomènes des doses plus ou moins grandes de levure.

En ajoutant des quantités variables d'acide salicylique et de levure à du moût de raisin, on a vu que 0gr,02 d'acide salicylique suffisaient à paralyser l'action de 0gr,5 environ de levure sèche dans 100 centimètres cubes de moût, mais n'avaient aucun effet pour des poids de levure supérieurs.

Dans une autre expérience sur la bière, 0,05 d'acide salicylique ont suffi à rendre 0,5 de levure sèche absolument inactive dans 100 centimètres cubes de guillage, cet acide ayant été maintenu, au moins partiellement, à l'état libre, par l'addition de 0cc,2 d'acide chlorhydrique.

Ces chiffres ne sont pas absolus. Ils peuvent varier avec la qualité de la levure, avec la nature du moût, avec la température. Ils peuvent varier aussi, comme nous l'avons vu, avec la nature de la substance fermentescible, n'être pas les mêmes, par exemple, sur une solution de glucose et de sucre candi. Jusqu'ici, en effet, nous n'avons pas eu à nous préoccuper des effets de diastases, dont l'intervention eût encore compliqué les phénomènes. Nous aurions vu se manifester alors une autre influence, celle du mode opératoire. Nous pouvons être assurés, par les résultats consignés au chapitre XIII, que l'effet d'un paralysant de la sucrase ne serait pas le même, si on l'ajoutait à la dissolution de sucre cristallisable avant l'addition de la levure de bière, ou après que celle-ci aurait eu le temps de transformer tout ou partie du sucre en glucose. Bref, on voit, par cette courte discussion, qu'il n'y a rien de variable comme les effets observés avec ce procédé expérimental sur l'action des antiseptiques, et qu'il n'y a rien à conclure de général des travaux nombreux où il a été employé. Nous nous croyons donc autorisé à les passer sous silence.

BIBLIOGRAPHIE

MELSENS. — Sur la vitalité de la levure. *Comptes rendus*, 1870, p. 630.

HOFFMANN. — *Botanische zeitung*, 1869, p. 223. *Zur Naturgeschichte der Hefe, Bot. Untersuch. aus dem physiol. Lab. von Karsten*, p. 358.

WIESSNER. — *Mikr. Untersuch.* Stuttgart, 1872.

M. MANASSEIN. — *Beitrage zur Kentniss der Hefe, und zur Lehre von alkoholischen Gahrung. Micr. Untersuch*, 1871, p. 116.

Ad. MAYER. — *Landwirthschaftliche Versuchsstationen*, 1873.

BLANKENHORN et MORITZ. — *Ann der œnologie*, III, 1e Heft.

J.-B. DUMAS. — Recherches sur la fermentation alcoolique. *Comptes rendus*, t. LXXV, p. 277, et *Ann. de ch. et de phys.*, 1872.

LIEBIG. — Sur la fermentation. *Sitzungsberichte der Kön. Bayer. Akademie der Wissenschaften zu München*, 1869, t. II, cahier 3, p. 323. Traduit dans le *Moniteur scient.*, février 1872.

SCHAËR. — *Zeitschr. f. Biologie*, 1870, p. 504.

AD. MAYER. — *Studien uber die alkoolische Gahrung. Landwirth. Versuchsst.*, von Prof. Dr F. Nobbe, Bd XVI, 1873.

RABUTEAU et F. PAPILLON. — Recherches sur les propriétés antifermentescibles et l'action physiologique du silicate de soude. *Comptes rendus*, t. LXXV, p. 755.

BÉCHAMP. — Sur l'action du borax sur les phénomènes de fermentation. *Comptes rendus*, t. LXXV, p 327.

A. PETIT. — Sur les substances antifermentescibles, *Comptes rendus*, t. LXXV, p. 881.

NEUBAUER. — Sur l'action antifermentescible de l'acide salicylique. *Moniteur scientifique*, mars 1875, septembre 1875 et septembre 1876.

H. FLECK. — *Acide benzoïque, acide phénique, acide salicylique.* Munich, 1875.

KOLBE. — *Journal f. Prakt. chemie*, 2e série, t. XII, et *Moniteur scientifique*, novembre 1875.

P. BERT et P. REGNARD. — Action de l'eau oxygénée sur les matières organiques et les fermentations. *Bull. de la Soc. de biologie*, 1880, et *Comptes rendus*, t. XCIV, p. 1383, 1882.

CHAPITRE XXXI

PRODUITS PRINCIPAUX DE LA FERMENTATION ALCOOLIQUE

Les deux produits les plus importants de la fermentation alcoolique sont, comme on sait, l'alcool et l'acide carbonique. Nous avons vu comment Lavoisier avait cherché à en apprécier les proportions relatives. Bien qu'il ait tiré de ses résultats des conclusions exactes, nous avons vu que ces résultats eux-mêmes étaient entachés d'assez grandes erreurs, qui auraient certainement réclamé une révision et des expériences nouvelles, si elles avaient existé au même degré dans une autre question. Mais ici, l'équation fameuse

$$C^{12}H^{12}O^{12} = 2C^4H^6O^2 + 4CO^2,$$

fournie par l'analyse organique seule, cadrait si bien avec les conclusions de Lavoisier, que personne n'avait songé à regarder de près à la seule expérience qu'on pût invoquer, pour démontrer qu'elle pouvait s'appliquer à la fermentation alcoolique.

L'idée avec laquelle M. Pasteur avait abordé cette étude ne lui permettait plus de se contenter de ces données approximatives. Le dosage exact de l'acide carbonique et de l'alcool provenant d'une fermentation était une des nécessités de la nouvelle théorie, et, comme nous le verrons, un critérium de sa justesse.

Dosage de l'acide carbonique. — D'abord, l'acide carbonique qui se dégage est-il pur? Lavoisier avait déjà vu qu'il était parfaitement absorbable par la potasse, mais il avait opéré sur un volume de gaz trop faible pour que ses résultats fussent bien concluants. Ramené à l'étude de cette question par les nécessités de son travail, M. Pasteur pensa à étudier l'acide carbonique qui se dégage en grand dans les fermentations industrielles. Il s'est servi pour cela de l'appareil, fig. 66, composé d'un entonnoir renversé qu'on enfonce dans la cuve de fermentation, et qui conduit le gaz qu'il recueille au sommet d'un ballon, de 1/2 litre à 1 litre, rempli d'une solution très concentrée de potasse caustique. Le flacon du bas sert à recevoir la potasse du ballon pendant l'arrivée des bulles d'acide carbonique, dont la dissolution n'est pas immédiate. Le robinet est fermé au commencement de l'opération, alors que la potasse remplit tout le

tube de verre jusqu'à l'orifice. De son côté, l'entonnoir et le tube de caoutchouc dont il est muni sont remplis du liquide fermentant, et c'est seulement alors que l'on adapte le caoutchouc au robinet. Les gaz se réunissent en haut du ballon et sont absorbés. Le poids d'acide carbonique est déterminé très exactement par la différence de poids de tout l'appareil avant et après l'expérience. Quant aux gaz non absorbables, qu'on trouve dans le ballon, on les mesure et on les étudie comme à l'ordinaire.

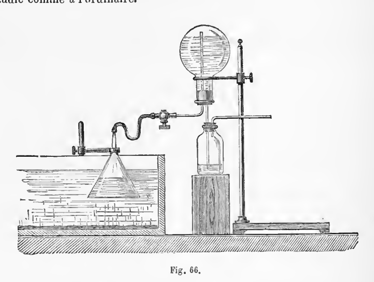


Fig. 66.

En opérant ainsi, M. Pasteur a trouvé que les gaz de ces fermentations industrielles, accomplies en présence des sels ammoniacaux présents dans les liqueurs, ne contenaient pas plus de $\frac{1}{10\,000}$ environ de leur volume d'azote. 60 à 70 litres de gaz laissent un résidu de 7 à 8 centimètres cubes non absorbables par la potasse, et provenant sans doute de l'air primitivement dissous dans les liquides.

On doit donc admettre que le gaz de la fermentation alcoolique est de l'acide carbonique pur, sans mélange sensible de gaz étrangers.

Ce premier point une fois constaté, il fallait doser l'acide carbonique provenant d'un poids déterminé de sucre.

Bien plus qu'on ne serait disposé à le croire, ce dosage rigoureux est difficile. M. Pasteur a essayé bien des méthodes : une seule a réussi, c'est celle qui consiste à faire fermenter le sucre dans un vase jaugé, primitivement plein de mercure, où l'on introduit successivement les matériaux de la fermentation. Malheureusement elle exige que l'on opère sur un poids de sucre assez minime, par la difficulté de manier sur le mercure des vases d'une grande capacité. Ceux dont M. Pasteur s'est servi n'avaient qu'un volume de 350 à 450 centimètres cubes, le col compris, et ne pouvaient guère recevoir que 1 gramme à 1^{gr},5 de sucre. Les nouveaux appareils, dont la science s'est enrichie depuis le travail de M. Pasteur, permettent des essais plus en grand. On peut, en adaptant la

tubulure de dégagement du gaz d'un flacon à fermentation à une pompe de Sprengel ou une machine pneumatique à mercure, recueillir au fur et à mesure qu'il se dégage, et faire passer dans des vases jaugés, tout le gaz de la fermentation. On peut faire le vide aussitôt après l'ensemencement. On peut aussi laisser le flacon rempli d'air, si on le juge convenable, et mesurer l'acide carbonique dégagé, par le volume du gaz absorbable par la potasse. A la fin de l'opération seulement, on fait le vide pour recueillir tout l'acide carbonique resté dissous dans le liquide. On peut ainsi séparer, conduire dans un ou plusieurs vases gradués, dans les conditions des mesures de gaz ordinaires, ou faire passer dans des tubes à absorption *tout* le gaz acide carbonique provenant d'une fermentation accomplie sur des quantités théoriquement quelconques de sucre et de levure. Je n'insiste pas sur les précautions à prendre en pareil cas, elles sont du domaine de la chimie générale.

Je n'insiste pas davantage sur les moyens de doser l'alcool présent dans la liqueur. Je me bornerai à remarquer que quand on veut l'obtenir en entier, il y a deux précautions à prendre : la première, c'est de disposer à la suite du vase, dans lequel se fait la fermentation, un ou deux flacons laveurs maintenus dans de l'eau très froide, de façon à arrêter autant que possible les petites quantités de vapeur alcoolique entraînées par le courant de gaz ; la seconde, c'est, quand on distille, de pousser la distillation au moins jusqu'aux $\frac{6}{10}$ et de ne pas s'arrêter, comme on le fait trop souvent, au tiers ou à la moitié du liquide. Je me suis assuré que l'on perd, en agissant ainsi, une trace d'alcool, qui est négligeable dans la pratique, mais qui, dans la balance de la réaction, pèse d'un certain poids, parce qu'elle correspond à une quantité double de sucre.

Il est bon aussi, comme l'a recommandé M. Maumené, de saturer le liquide qu'on distille, de façon à éviter le passage dans le récipient d'une petite portion des acides volatils dont nous verrons que la fermentation s'accompagne nécessairement.

Quant au dosage de l'alcool dans le liquide distillé, il faut le faire par une mesure de densité, et pour cela laisser l'alcool aussi concentré que possible. Les alcoomètres sont toujours incertains et très souvent infidèles. Leurs indications dépendent, dans une trop large mesure, du mode de graduation qui est presque toujours défectueux, et surtout de la tension superficielle du liquide qui, dans les degrés inférieurs de l'échelle, peut conduire à des erreurs notables que le procédé par la mesure des densités évite totalement.

L'alcool et l'acide carbonique, en leur qualité de produits *volatils*, sont généralement faciles à reconnaître et à doser. Il n'en est pas de même de deux autres produits dont il nous reste à parler, et que M. Pasteur a découverts dans tous les liquides fermentés, la glycérine et l'acide succinique.

La présence de l'acide succinique avait été constatée avant lui, dans les liquides fermentés, par le docteur Schmidt, de Dorpat; mais comme ce savant ne s'était pas préoccupé de la pureté de la levure, et par suite de celle de la fermentation, cette constatation perd de son intérêt. M. Pasteur a prouvé que ces deux corps étaient des produits nécessaires de la fermentation alcoolique, qu'on pouvait dans certaines circonstances les obtenir en poids supérieur au poids

de la levure employée, et qu'on devait par conséquent les considérer, non comme des produits d'excrétion de la levure, mais comme des produits normaux au même titre que l'alcool et l'acide carbonique. Leur poids n'est d'ailleurs pas négligeable : nous verrons que le poids de la glycérine varie entre 3,2 et 3,6 p. 100 du poids du sucre. Il est donc important d'avoir un moyen de les reconnaître et de les doser.

Je donne presque textuellement ici celui qui a été employé par M. Pasteur dans ses recherches sur la fermentation alcoolique, et qui embrasse l'étude de la totalité du liquide de fermentation. Nous y trouverons certains faits qui nous seront utiles plus tard.

Analyse du liquide fermenté. — Le liquide fermenté est filtré sur un filtre dont la tare a été faite avec un autre filtre de même papier. Après dessiccation à 100 degrés, une pesée donne le poids, à l'état sec, du dépôt de levure qui s'est rassemblé peu à peu au fond du vase où s'est opérée la fermentation.

Le liquide filtré est soumis à une évaporation très lente dont je donnerai à peu près la mesure en disant qu'il faut douze à vingt heures pour évaporer 1 demi-litre d'eau. Lorsqu'il reste environ 10 à 20 centimètres cubes de liquide, on achève l'évaporation dans le vide sec.

Si l'évaporation est plus rapide et se termine à feu nu, on perd infailliblement une quantité très sensible d'acide succinique et de glycérine. Après vingt-quatre heures de vide sec, le résidu sirupeux de la capsule est traité, à diverses reprises, par un mélange d'alcool et d'éther, formé de 1 partie d'alcool à 90 ou 92°, et de 1 partie et demie d'éther rectifié. Pour plus de sûreté, on jette chaque portion de ce mélange éthéré sur un filtre, bien que généralement le résidu insoluble reste en une masse plastique au fond de la capsule; mais, à mesure que les lavages se répètent, le résidu, perdant son eau de plus en plus, devient dur et quelquefois se divise en grumeaux, ce qui peut souiller le liquide de lavage de matières solides en suspension. Quoi que l'on fasse, le résidu insoluble offre une très faible réaction acide au papier de tournesol bleu. C'est sa nature. Après sept ou huit lavages, il n'y reste plus d'acide succinique ni de glycérine.

Nous reviendrons sur la composition de ce résidu insoluble dans le mélange alcoolique éthéré. Disons seulement ici que, pour en déterminer le poids total, il suffit de le reprendre par l'eau et de l'évaporer dans une capsule tarée, d'abord au bain-marie, puis dans l'étuve à eau, à 100 degrés, jusqu'à ce que son poids soit invariable.

Occupons-nous maintenant du liquide alcoolique éthéré. Le flacon même où on l'a recueilli est placé dans un bain-marie tiède pour chasser la plus grande partie de l'éther. On peut alors, en ajoutant de l'eau, évaporer dans une capsule de porcelaine, sans craindre que le grimpement du liquide éthéré donne lieu à des pertes. Cette évaporation doit se faire également à un feu très doux et se terminer dans le vide sec.

Alors on ajoute de l'eau de chaux pure bien limpide jusqu'à neutralité aussi exacte qu'il est possible de l'atteindre. On évapore de nouveau avec les mêmes précautions, et on reprend le résidu par le mélange alcoolique éthéré, qui ne dissout que la glycérine.

Le succinate de chaux reste à l'état cristallin, souillé d'une petite quantité de matière extractive ou d'un sel de chaux à acide incristallisable. Il est facile de débarrasser le succinate de chaux de cette impureté en le faisant digérer, dans la capsule même où il se trouve, avec de l'alcool à 80°, durant vingt-quatre heures; l'alcool dissout les matières étrangères et laisse intact, cristallisé, presque incolore, le succinate de chaux, qui peut être regardé alors comme suffisamment pur. Recueilli ensuite sur un filtre taré, il est desséché et pesé.

Quant à la glycérine, elle est également pesée après évaporation très lente, dans une capsule tarée, du liquide alcoolique qui la tient en dissolution. Cette évaporation s'achève encore dans le vide sec, où la glycérine ne doit être maintenue que deux ou trois jours, car elle y diminue de poids, même à la température ordinaire, lorsqu'elle est privée d'eau.

On obtient ainsi toute la glycérine du liquide fermenté sans perte sensible, et elle peut être regardée comme pure si elle provient d'un liquide fermenté sous l'influence d'une quantité suffisante et non exagérée de levure de bière. Lorsque l'on emploie trop de levure, beaucoup plus qu'il n'en faut pour la proportion de sucre mise en expérience, la pureté de la glycérine s'en ressent, parce que la levure renferme une très petite quantité de principes qui sont solubles dans le mélange d'alcool et d'éther. La saveur de la glycérine en avertit bien vite. Il faut extrêmement peu de ces produits étrangers pour lui donner une saveur amère et piquante. Elle doit également se dissoudre sans résidu dans l'alcool absolu ou dans un mélange d'alcool et d'éther. Je le répète, l'impureté ne provient que des matières dont je viens de parler, et on est en quelque sorte maître de les diminuer autant que l'on veut, et dans tous les cas de les doser à part pour les défalquer du poids total de glycérine obtenue. La fermentation ne donne par elle-même aucun produit qui puisse altérer la pureté de la glycérine extraite comme je viens de le dire.

Procédés de M. Macagno. — Quand il s'agit non plus d'un liquide de fermentation, mais d'un vin où il faut rechercher la glycérine et l'acide succinique, le procédé précédent fournit toujours de la glycérine assez impure, mélangée de matière colorante, de glucose, et d'acides remis en liberté pendant l'évaporation, malgré la saturation par la chaux à laquelle on a dû soumettre le vin avant de commencer. Dans ce cas, le procédé imaginé par M. Macagno donne de meilleurs résultats.

On mélange à un demi-litre de vin 10 ou 15 grammes d'oxyde de plomb récemment précipité. En remuant le tout à chaud, on obtient un précipité gris très abondant, et, en filtrant, on a un liquide très limpide contenant la glycérine, le glucose, quelques sels solubles de plomb, et toutes les bases solubles, primitivement combinées aux acides du vin, et que l'oxyde de plomb a séparées. On évapore ce liquide au bain-marie et on mélange le résidu avec de l'oxyde de plomb hydraté en suspension dans l'alcool. L'oxyde de plomb sature les acides libres qui se sont encore formés pendant l'opération, et si on le laisse en contact un temps suffisant, il forme avec le glucose un composé insoluble. L'alcool, de son côté, dissout la glycérine. On filtre, on traite la liqueur filtrée par un courant d'acide carbonique, qui précipite le plomb en excès, et trans-

forme la potasse, mise en liberté par l'oxyde de plomb, en carbonate de potasse insoluble dans l'alcool. Le liquide filtré, évaporé au bain-marie, abandonne la glycérine pure.

La seule cause d'erreur de ce procédé est l'acide acétique ordinairement contenu dans les vins, qui passe à l'état d'acétate de plomb. Ce corps se retrouve à la fin de l'opération dans la glycérine. Pour éviter cette cause d'erreur, M. Macagno recommande d'éliminer l'acide acétique en réduisant à un tiers de litre le demi-litre de vin employé; mais nous savons qu'on n'élimine ainsi qu'une très petite partie de l'acide acétique. Le procédé n'est donc pas encore parfait, mais tel qu'il est, il donne des résultats supérieurs aux autres.

Pour la recherche de l'acide succinique, d'après M. Macagno, on reprend le précipité gris qui s'est formé dans l'opération précédente, quand on a traité le vin par la quantite d'oxyde de plomb nécessaire pour y faire disparaître toute trace de couleur. Seulement comme tous les vins renferment du tannin qui passe dans ce précipité à l'état de tannate de plomb et qui gênerait pour le dosage de l'acide succinique, il faut, quand on veut doser ce corps en même temps que la glycérine, traiter tout d'abord le vin par de la gélatine ou de la peau fraîche en quantité suffisante pour en éliminer tout le tannin. C'est ensuite, et sur ce vin filtré, qu'on ajoute l'oxyde de plomb récemment précipité. On sépare le précipité, on le fait bouillir longtemps dans de l'eau additionnée de 10 p. 100 de nitrate d'ammoniaque, qui dissout plus facilement le succinate de plomb; on filtre de nouveau, et on fait passer dans le liquide un courant d'acide sulfhydrique. Le liquide filtré contient en liberté les acides fixes du vin et en particulier l'acide succinique. On le chauffe pour chasser l'acide sulfhydrique en excès, on le concentre au volume de 100 centimètres cubes environ, on le neutralise par l'ammoniaque, on le fait bouillir pour chasser l'ammoniaque en excès et on ajoute quelques gouttes de perchlorure de fer tenu en contact avec du sesquioxyde de fer, pour être bien assuré de l'absence de l'acide chlorhydrique libre. Le succinate de fer qui se forme est recueilli, lavé et calciné. Le poids de sesquioxyde restant, multiplié par le facteur 1,978, donne le poids de l'acide succinique.

BIBLIOGRAPHIE

PASTEUR. — Mémoire sur la fermentation alcoolique. *Ann. de ch. et de phys.*, 3e série, t. LVIII.

MACAGNO. — *Lavori eseguite alla R. Stazione esperimentale di Asti*, 1880.

H. RAYNAUD. — Sur le dosage de la glycérine dans les vins. *Bull. de la Soc. chim.*, t. XXXIII, p. 259.

CHAPITRE XXXII

ORIGINE ET VARIATIONS DES PRINCIPAUX PRODUITS DE LA FERMENTATION ALCOOLIQUE

Maintenant que nous avons appris à reconnaître et à doser les produits principaux de la fermentation alcoolique, il nous reste à étudier la question de leur origine et de leurs variations.

Disons d'abord bien ce que nous entendons par origine. Lorsque, dans une fermentation, nous voyons l'alcool et l'acide carbonique produits représenter à peu près, poids pour poids, le sucre employé, nous sommes évidemment conduits à dire que l'acide et l'alcool proviennent du sucre. Il est vrai que la levure est nécessaire à leur production, et puisqu'on ne connaît aucun moyen artificiel de dédoubler le sucre en ces deux produits, il est bien probable que ce sucre a fait à un moment quelconque, avant de se décomposer, partie des matériaux de la levure, puisque c'est seulement à cette condition que celle-ci a pu agir sur lui. Mais l'origine première de l'alcool et de l'acide carbonique n'en est pas moins le sucre introduit.

A l'époque où on envisageait la levure comme exerçant une action latérale à la fermentation alcoolique, la conception dont nous parlons était d'une clarté telle qu'elle ne laissait place à aucune autre interprétation, et elle s'était tout naturellement traduite dans la formule connue de la fermentation du sucre. Elle est devenue un peu plus complexe maintenant que nous connaissons le rôle actif et vivant de la levure. Mais bien que le sucre ait besoin de passer par un être vivant, il n'en est pas moins la source de l'alcool et de l'acide carbonique, non pas seulement parce qu'il est relié à ces deux corps par une équation chimique, dont nous verrons bientôt le caractère incertain, mais surtout parce que c'est le seul élément présent dont le poids soit comparable au leur.

La glycérine et l'acide succinique sont en poids beaucoup plus faible par rapport à celui du sucre, beaucoup plus comparable à celui de la levure qui se forme. Ces corps aussi ont fait partie des matériaux de la levure, puisqu'on ne connaît pas de moyen artificiel de les dériver du sucre. Mais bien que l'équation de la réaction soit plus obscure que celle de tout à l'heure, nous n'en serons pas moins autorisés à dire que la glycérine et l'acide succinique proviennent

aussi du sucre, si nous réussissons à obtenir des fermentations dans lesquelles le poids de chacun de ces deux corps soit supérieur au poids de la levure entrée en action. Il est clair qu'alors, quels qu'aient été les stades intermédiaires et le lieu de la transformation, leur production exigera la consommation d'une certaine quantité de sucre.

Prenons maintenant un corps comme la leucine, qu'on trouve en quantités très faibles dans l'extrait du liquide fermenté, ou encore les matériaux albuminoïdes solubles dans le liquide, ou bien encore la petite quantité de matière grasse qui y entre en émulsion. Sans doute on peut dire aussi que tous ces produits ont pour origine première le sucre, et la chose devient même tout à fait évidente, lorsqu'on songe qu'il peut s'en former dans un milieu minéral approprié, où ou n'introduit que du sucre, un sel ammoniacal et une trace de levure comme semence. Mais ces produits sont toujours d'un poids plus faible que celui de la levure, on les trouve à l'état de principes constituants à l'intérieur de la cellule; quand on les rencontre dans le liquide où elle a vécu, il faut bien les considérer comme des produits d'élimination provenant de la levure, et les distinguer ainsi de ceux que nous avons étudiés plus haut.

Cette distinction n'a évidemment rien de fondamental. Il peut se faire, et quelques savants ont même pensé que l'alcool et l'acide carbonique étaient eux-mêmes des produits d'excrétion de la cellule. Il est certain au moins, et nous aurons bientôt l'occasion de le prouver, qu'une portion de l'acide carbonique dégagé est le résultat du travail respiratoire vital de la cellule, et doit être considérée comme en provenant au même titre que la leucine, au sens que nous avons donné plus haut à cette expression. Mais, au point où en sont nos connaissances précises sur la fermentation alcoolique, il est utile de distinguer des produits de deux sources. Ceux qui proviennent du sucre, nous les avons qualifiés de principaux; et comme ils n'entrent jamais profondément dans le cycle vital de la cellule, ils ne subissent que des transformations très simples que nous devrons essayer de représenter par une équation. Pour les autres, nous ne nous croirons pas obligés pour le moment à faire la même chose. Les transformations qu'ils subissent sont d'ordre vital, et la science n'est pas encore prête à se représenter des phénomènes de cet ordre. Elle n'en a actuellement qu'une idée trop confuse.

Éclairons donc d'abord la question d'origine, et, puisque c'est chose inutile, pour l'acide carbonique et l'alcool, du jugement de tous, occupons-nous de la glycérine et de l'acide succinique.

Formation constante de glycérine et d'acide succinique. — Il y a, à ce sujet, une question préjudicielle que nous devons d'abord vider. Nous avons dit et prouvé que tous les liquides fermentés renferment de la glycérine et de l'acide succinique. La fermentation alcoolique a été si longtemps envisagée comme un phénomène simple, que l'on pourrait être tenté de voir dans ces deux corps des produits accessoires, peut-être ceux d'une autre fermentation parallèle, accomplie sous une influence particulière et inconnue. Il faudrait alors faire deux parts dans le sucre : l'une qui donnerait de l'alcool et de l'acide carbonique en obéissant à la formule connue; l'autre qui donnerait la

glycérine et l'acide succinique suivant une formule qui reste à trouver. Ces deux phénomènes se produiraient à la fois dans l'acte de la fermentation et seraient simultanés, mais ils seraient aussi indépendants, et s'exécuteraient en vertu de forces distinctes.

Cette manière de voir soulève diverses objections. En premier lieu, on ne trouve dans le liquide de fermentation rien autre chose de vivant que de la levure de bière; et lui refuser *à priori*, d'une façon tout à fait arbitraire, le pouvoir de faire de la glycérine et de l'acide succinique, lorsqu'on lui reconnaît celui de faire de l'alcool et de l'acide carbonique, lui refuser ce pouvoir pour l'attribuer à une force particulière et inconnue, ce serait évidemment faire un singulier raisonnement. De plus, si les deux forces actives, que nous venons de supposer concourir simultanément à l'acte de la fermentation alcoolique, sont en réalité distinctes, et ne procèdent pas d'une origine commune, on peut espérer *à priori* qu'en changeant les conditions de la fermentation, on fera varier ces forces, et qu'on modifiera dans une proportion notable la quantité de leurs produits.

« Or, dit M. Pasteur, j'ai analysé, en suivant les méthodes précédemment indiquées, un nombre considérable de fermentations alcooliques effectuées dans les conditions les plus diverses. J'ai fait varier la température, la pression, les poids de sucre, la nature des sucres, l'origine et la nature des levures, l'état d'acidité ou de neutralité du milieu. Je me suis servi de levures tout organisées; d'autres fois je les ai fait naître, soit spontanément par le contact de l'air à l'origine, soit par la semence de globules frais de levure adulte. Dans toutes ces circonstances, si multipliées et si diverses, je n'ai jamais pu m'opposer à la formation soit de la glycérine, soit de l'acide succinique..... J'ai vu quelquefois diminuer ou augmenter les proportions de ces deux produits, sans que leur rapport fût modifié sensiblement dans la limite d'exactitude de mes procédés analytiques, mais dans aucun cas ils n'ont disparu.

« Les variations dans les proportions de l'acide succinique, de la glycérine, et, par suite, des autres produits de la fermentation, ne doivent pas surprendre dans un phénomène où les conditions apportées par le ferment paraissent devoir être si changeantes. Ce qui m'a surpris au contraire, c'est la constance habituelle des résultats. Je suis donc très porté à voir dans l'acte de la fermentation alcoolique un phénomène simple, unique, mais très complexe, comme peut l'être un phénomène corrélatif de la vie, et donnant lieu à des produits multiples tous nécessaires. »

Tous les progrès réalisés depuis qu'ont été écrites ces lignes, extraites du mémoire sur la fermentation alcoolique, ont confirmé cette manière de voir, et nous sommes autorisés à considérer la glycérine et l'acide succinique comme des produits constants de la fermentation alcoolique au même titre que l'alcool et l'acide carbonique.

La glycérine et l'acide succinique proviennent du sucre. — Démontrons maintenant qu'ils proviennent du sucre. Pour le prouver, à propos de la glycérine, nous n'avons rien de mieux à faire que de citer ici les résultats numériques de l'étude d'une fermentation, qui pourront nous servir de termes

de comparaison pour plus tard, et auront l'avantage de traduire en nombres des notions qui, sans cela, resteraient un peu confuses et flottantes.

La fermentation dont nous voulons parler avait été mise en train avec :

700cc d'eau.
100gr de sucre candi.
6gr,254 de levure fraîche, correspondant à 1gr,198 de levure séchée à 100°.

La fermentation a duré longtemps, parce qu'il y avait très peu de levure. Quand elle a été terminée, on en a analysé les produits suivant la méthode indiquée au chapitre XXXI.

Laisons pour le moment dans cette fermentation tout ce qui est relatif à la levure, nous le retrouverons plus tard. Occupons-nous seulement de la glycérine et de l'acide succinique. Le liquide alcoolique éthéré qui a servi à les dissoudre, évaporé avec les précautions indiquées, se remplit de cristaux feuilletés d'acide succinique. La cristallisation de cet acide n'a lieu que dans des cas exceptionnels, lorsqu'on a employé très peu de levure, parce que celle-ci cède alors au liquide une très petite quantité de principes solubles.

Ce résidu sirupeux et cristallin a été repris par l'eau, et saturé par l'eau de chaux. Il a exigé pour sa saturation 0gr,350 de cette base. S'il n'y avait que de l'acide succinique, cette proportion de chaux en accuserait 0gr,737.

Le liquide saturé, évaporé, est repris par le mélange éthéro-alcoolique qui, cette fois, ne dissout que la glycérine. Desséchée dans le vide, celle-ci pèse 3gr,640. Son poids est donc plus du double de celui de la levure employée. Son origine, au sens donné plus haut à cette expression, n'est donc pas douteuse. Elle provient du sucre, et le sucre qui l'a fournie est perdu pour la production d'alcool et d'acide carbonique suivant la formule connue.

Le résidu resté insoluble, quand on a dissous la glycérine, est du succinate de chaux souillé d'une matière cornée, hygrométrique, qu'on enlève en laissant digérer le mélange pendant une nuit avec de l'alcool à 80°. Le succinate de chaux, resté insoluble, avait un poids de 0gr,890, ce qui correspond à 0gr,673 d'acide succinique.

Ce poids est inférieur à celui de la levure, et notre expérience, très bonne pour la glycérine, ne prouve rien pour l'acide succinique. Il est facile d'en installer une qui soit très probante à ce point de vue. Il suffit de dissoudre du sucre dans de l'eau de levure, et d'ajouter à ce liquide, assez nutritif pour la levure, une quantité pour ainsi dire impondérable de globules de levure frais. Le poids d'acide succinique produit dans ces conditions est toujours notablement supérieur au poids de la semence, et la conclusion que nous avons tirée plus haut pour la glycérine se montre aussi valable pour lui ; mais ce nouveau liquide est à son tour plus impropre que le précédent au dosage de la glycérine, à cause des produits azotés qui l'accompagnent dans le liquide, de sorte que pour arriver à une preuve complète, les deux procédés doivent être employés à la fois.

Nous voyons en résumé que la glycérine et l'acide succinique proviennent du sucre, et nous voyons aussi que la proportion de ce corps qui est employée à les produire, et qui est perdue pour la production d'alcool, n'est pas négligeable.

Nous trouvons en effet, provenant de ce chef dans l'expérience précédente, accomplie sur 100 grammes de sucre :

Acide succinique, $C^8H^6O^8$	0,673
Glycérine, $C^6H^8O^6$	3,640
Total	4,313

Nous pouvons donc déjà affirmer que plus de 4 p. 100 du sucre échappent à l'équation théorique de Lavoisier et de Gay-Lussac. Ce nombre est un minimum, car nous allons voir que le sucre sert à bien d'autres usages.

La seule conclusion que nous voulions tirer pour le moment de ce fait est que, dans aucune liqueur fermentée, on ne trouve la quantité théorique d'alcool que pourrait fournir le sucre. C'est en outre que, en prenant les choses en gros, les variations dans la proportion d'alcool donné par un poids de sucre seront accompagnées de variations de sens inverse dans le poids de la glycérine et de l'acide succinique. Cherchons ce que l'expérience nous dit à ce sujet.

Variations de la glycérine et de l'acide succinique. — On sait malheureusement peu de chose sur les variations de la glycérine et de l'acide succinique.

Dans les fermentations de sucre de canne, faites sous l'influence de la levure de bière, les proportions de glycérine peuvent varier de 2,5 à 3,6 p. 100 du poids du sucre, et celui de l'acide succinique, de 0,5 à 0,7. Le rapport entre les poids de ces deux substances est à peu près constant, et égal environ à 5, mais les poids individuels varient, comme on le voit, proportionnellement davantage que les poids d'alcool fournis par un même poids de sucre.

Il serait intéressant de démêler les causes de ces variations. Tout ce qu'on sait de général à leur sujet se résume dans les quelques propositions suivantes.

Il se forme d'autant plus de glycérine et d'acide succinique et, par suite, d'après ce que nous faisions remarquer tout à l'heure, d'autant moins d'alcool, que la fermentation est plus longue, qu'elle se fait avec de la levure plus épuisée, moins jeune, ayant peu d'aliments et des aliments mal appropriés à la multiplication des globules.

Les fermentations par ensemencement, en présence d'une quantité plus que suffisante de matières albuminoïdes et minérales appropriées à la nature des globules, fournissent moins de glycérine et d'acide succinique et plus d'alcool.

Une faible acidité de la liqueur semble diminuer également les proportions de glycérine et d'acide succinique. Le contraire arrive si le milieu est neutre.

Mais ces conclusions, en admettant leur généralité, ne s'appliquent qu'au cas du sucre candi fermentant avec la levure de bière, c'est-à-dire aux conditions dans lesquelles on installe d'ordinaire les fermentations de laboratoire. Si on s'adresse aux fermentations industrielles, par exemple à celle qui fournit le vin, on trouve des résultats sensiblement différents.

C'est ainsi que les deux dernières propositions que nous énoncions plus haut ne sont plus vraies ; et bien que la fermentation du raisin s'accomplisse dans un milieu acide et en présence de matières albuminoïdes et minérales qui parais-

sent on ne peut mieux appropriées à la nutrition du ferment, les proportions de glycérine et d'acide succinique qu'on trouve dans les vins sont d'ordinaire supérieures à celles que fournit la fermentation d'un liquide artificiel, sucré au même degré.

Voici quelques nombres qui le prouvent. Les premiers ont été obtenus par M. Pasteur par la méthode analytique que nous avons indiquée dans le chapitre précédent. Toutefois, les nombres relatifs à l'acide succinique n'ont pas été trouvés directement, ils ont été calculés au moyen du nombre trouvé pour la glycérine, et en admettant que ces deux nombres sont dans le rapport de 5 à 1.

	Glycérine dans 1 litre.	Acide succinique dans 1 litre.	Alcool en poids dans 1 litre.
Vin vieux de Bordeaux (bonne qualité).	7gr,412	1gr,48	74gr
Vin de Bordeaux ordinaire	6 ,97	1 ,39	73 ,5
Vin de Bourgogne vieux (bonne qualité). . . .	7 ,34	1 ,47	81
Vin de Bourgogne ordinaire.	4 ,34	0 ,87	78
Vin d'Arbois vieux (bonne qualité).	6 ,75	1 ,35	90

On voit que la proportion de glycérine trouvée dans ces diverses espèces de vins, mise en rapport avec la teneur en alcool, de laquelle on peut déduire approximativement le poids primitif de sucre du moût de raisin, paraît indiquer qu'il se forme bien plus d'acide succinique et de glycérine que dans les fermentations ordinaires. Le vin de Bourgogne ordinaire se rapprocherait seul de ces fermentations. Mais M. Pasteur croit que celui qu'il a étudié avait été additionné d'eau et d'alcool, ce qui rend toute comparaison illusoire.

A quoi tient ce résultat ? M. Pasteur s'est assuré qu'on ne pouvait pas l'attribuer à une différence de propriétés entre la levure de bière et celle de raisin. Celle-ci, employée à faire fermenter du sucre candi dans de l'eau de levure, y a donné des proportions d'acide succinique et de glycérine qui se rapprochent tout à fait de celles que fournit la levure des brasseries.

Influence de la nature des sucres. — La différence dans la nature des sucres est également impuissante à expliquer les différences que nous signalons. Voici en effet les résultats obtenus par M. Pasteur, en faisant fermenter, dans les mêmes conditions, des poids, autant que possible égaux, des divers sucres fermentescibles.

	9gr,948 de lactose.	9gr,814 de glucose.	9gr,976 de sucre incristallisable en sirop.	9gr,899 de sucre candi.
Poids de levure formée.	0gr,192	0gr,170	0gr,136	0gr,152
Poids d'acide succinique.	0 ,075	0 ,066	0 ,058	0 ,068
Poids de glycérine.	0 ,338	0 ,297	0 ,280	0 ,288

Toutes ces fermentations avaient été mises en train avec 20 centimètres cubes d'eau de levure renfermant 0gr,354 de matière albuminoïde et minérale, et ensemencées avec une trace de levure.

Les poids d'acide succinique sont un peu forts, ayant été calculés d'après le poids de chaux nécessaire pour la saturation.

Le lactose provenait de l'action des acides sur le sucre de lait. Celui-ci était cristallisé et perdait 2,8 p. 100 d'eau, à 100°.

Le glucose provenait du sucre de cannes interverti par les acides; il était cristallisé et a perdu 9,03 p. 100, après quatre jours à 100°.

Le sucre incristallisable provenait du sucre de cannes interverti par les acides. Le sucre abandonné à lui-même en sirop, après avoir éliminé l'acide, a donné du glucose cristallisé déviant à droite, et du sirop incristallisable déviant à gauche. Les 9gr,976 de sirop renfermaient 6gr,98 de sucre $C^{12}H^{12}O^{12}$. On voit pourtant qu'ils ont fourni autant de glycérine que les autres essais, et on peut en conclure que c'est ce sucre qui en fournit le plus et le sucre candi le moins. Mais le sucre de raisin se rapproche trop du sucre candi pour qu'il puisse nous servir à nous expliquer ce qui se passe dans les vins.

Nous ne pouvons donc guère recourir qu'à des différences dans la composition élémentaire du liquide. Ce qui est d'accord avec cette manière de voir, c'est que, avec le même sucre et la même levure, les vins des différents pays présentent de grandes variations dans les proportions de glycérine et d'acide succinique.

Voici, pour le prouver, quelques chiffres se rapportant à des vins d'Italie et résultant des analyses faites, à la station expérimentale agricole de Rome, par MM. Fausto Sestini, del Torre et Baldi.

	Glycérine par litre.	Acide succinique par litre.	Alcool en poids par litre.
Vins rouges.	—	—	—
Nebiolo de Ligorie (9 ans)	12,01	1,44	115 ,6
Barolo sec d'Asti	5,50	1,08	99 ,7
Chianti de Toscane (7 ans)	7,64	1,38	106 ,1
Aleatico de Toscane (7 ans)	5,21	0,51	126 ,0
Lacryma Christi du Vésuve	12,1	1,70	118 ,8
Marengo supérieur (7 ans)	10,6	1,18	100 ,0
Vins blancs.			
Muscat d'Asti (2 ans)	7,52	0,05	109 ,3
Marengo supérieur (7 ans)	7,94	0,03	89 ,4
Capri	5,84	0,09	107 ,3
Muscat de Catane	9,83	0,38	131 ,1
Marsala supérieur	9,57	0,26	170 ,5
Vernaccia sec de Sardaigne (28 ans)	5,97	0,26	142 ,2

Tous ces vins étaient des vins de choix, et plusieurs avaient certainement été vinés. Il faut noter comme curieuses, s'il n'y a pas eu erreur, les doses considérables de glycérine, en moyenne très supérieures à celles des vins français, et les petites quantités d'acide succinique de certains vins blancs.

On retrouve des irrégularités de même ordre dans les analyses suivantes, publiées par Al. Salomon et faites surtout sur des vins d'Allemagne :

	Alcool p. 100.	Glycérine par litre.	Acide succinique par litre.
Markgrafler Reckenhager, non aéré, chasselas, 1868.	9,7	2,39	0,48
Le même, aéré.	10,0	2,37	0,48
Ihringer Riesling 1865, non chauffé.	9,7	6,61	1,32
Riesling, non aéré.	9,4	8,12	1,63
Le même, aéré, 1867.	9,5	6,43	1,27
Ihringer Weissherhst, aéré, 1867.	8,3	10,2	2,01
Ihringer Rother Burgunder, aéré.	9,2	2,6	0,52
Markgrafler Edelwein, aéré, 1868.	9,3	7,31	1,46
Chasselas Reckenhager, non aéré, 1865.	8,9	8,25	1,65
Le même, aéré, 1868.	9,0	6,61	1,32
Ihringer Weissherbst, aéré, 1868.	9,6	5,30	1,06
Chasselas Reckenhager, aéré, 1868.	8,9	5,72	1,17
Ihringer Traminer, 1868.	9.2	6,93	1,39
Mâcon.	8,3	7,19	1,44
Chablis.	9.3	4.88	0,98
Saint-Émilion.	8,7	5,02	1,05
Madère.	18,0	4,04	0,81
Vin petiotisé, 1865.	8,9	4,42	0,88

La méthode employée dans ces analyses était à peu près celle de M. Pasteur. On évaporait au tiers 100 centimètres cubes de vin, à 40° environ, on neutralisait les acides avec de l'eau de chaux, on ajoutait du noir animal, et on desséchait le tout à 40°. La matière pulvérulente obtenue était traitée par le mélange d'alcool et d'éther. La solution de glycérine, évaporée d'abord à la température ordinaire, était ensuite concentrée dans le vide, jusqu'à cessation de perte de poids. On n'a pas évalué directement le poids de l'acide succinique.

On voit quelles variations énormes présentent les poids de glycérine. Elles sont telles, qu'on est tenté de rejeter la raison que nous avons donnée plus haut pour les expliquer, et d'admettre qu'il y a probablement là une cause d'erreur due au procédé d'analyse. Nous avons vu, p. 375, qu'il donnait, dans le cas des vins, et mélangés à la glycérine, du sucre, des acides et divers autres matériaux qui peuvent bien en augmenter le poids d'une façon variable avec la nature et la qualité du vin, et expliquer les irrégularités que nous venons de constater.

Ce qui confirme dans cette idée, c'est que les résultats, de M. Macagno, obtenus par un procédé différent, que nous avons indiqué plus haut, ont donné des chiffres beaucoup plus en rapport avec ceux que donnent les fermentations artificielles. Les expériences de M. Macagno ont été faites sur des vins de provenance sûre, provenant presque tous des vignobles d'Asti. Voici leurs résultats :

	Alcool pour 100.	Glycérine par litre.	Acide succinique par litre.
Vin de table commun.	11	4,69	0,94
Grignolino 1871.	12	5,31	1,03
Montepulciano 1873.	13	5,53	1,11
Barbera.	14	5,96	1,18
Alcatico.	14	5,94	1,17
Tokay.	14	5,95	1,25
Malvasia.	14	5,98	1,19
Grignolino.	14	5,95	1,20
Muscat blanc.	14	5,99	1,18

Les chiffres qu'on devrait trouver pour la glycérine et l'acide succinique, s'ils sont liés à la teneur en alcool par la même relation que dans les fermentations artificielles étudiées par M. Pasteur, auraient dû être :

Alcool p. 100.	Glycérine.	Acide succinique.
—	—	—
11	4,98	0,92
12	5,43	1,09
13	5,88	1,17
14	6,42	1,25

Les nombres de M. Macagno sont par comparaison tous un peu plus petits, mais ils se rapprochent beaucoup de ceux qui précèdent, et cette régularité a de quoi surprendre quand on la compare aux irrégularités des résultats que nous avons rappelés plus haut.

Il pourrait donc se faire, après tout, qu'il n'y ait là qu'une question de procédé analytique, et que partout où on a cru trouver une exagération inexplicable dans les proportions de glycérine, c'est qu'on avait pesé, en même temps qu'elle, une portion des substances qui l'accompagnaient dans les liqueurs, et que le procédé de M. Macagno réussirait seul à éliminer.

Nous devons terminer cette série d'études par une dernière considération, que nous emprunterons à M. Pasteur, et dans laquelle il insiste sur l'importance de la découverte et du rôle de la glycérine et de l'acide succinique dans les vins.

« Les vins dont la fermentation a enlevé tout le sucre donnent une quantité d'extrait qui varie suivant les auteurs de 15 à 25 grammes par litre. Plus du tiers, souvent près de la moitié des matériaux solides du vin étaient donc inconnus jusqu'à ce jour, et les plus importants sans contredit... Tout le monde sera porté à attribuer à la glycérine, principe essentiel des matières grasses, une part utile dans les propriétés bienfaisantes du vin. La présence de la glycérine dans le vin, où elle est associée à des matières albuminoïdes et à des phosphates, mérite l'attention sérieuse des physiologistes. L'acide succinique, malgré sa proportion relativement faible, est loin d'être négligeable. La saveur de cet acide a quelque chose d'étrange, et en mélangeant de l'eau, de l'alcool, de la glycérine et de l'acide succinique dans les proportions de la fermentation, on est surpris de sentir à quel degré ces mélanges rappellent le vin. On acquiert ainsi la conviction que la saveur propre à cette boisson, dans ce qu'elle a de plus *sui generis*, est due pour une part essentielle à l'acide succinique. »

BIBLIOGRAPHIE

PASTEUR. — Mémoire sur la fermentation alcoolique. *Ann. de ch. et de phys.*, 3e s., t. LVIII.

MACAGNO. — *Lavori. es. nella R. Staz. di Asti*, 1880.

AL. SALOMON. — *Bestimmung der alkohols im wein nach verschiedenen Methoden. Ann. der Œnologie*, t. I, 1870-1871.

CHAPITRE XXXIII

ROLE DU SUCRE DANS LA FERMENTATION ALCOOLIQUE

Nous venons de voir une partie du sucre distraite de la production de l'alcool pour donner de la glycérine et de l'acide succinique. Un court instant de réflexion prouve que son rôle ne peut pas être borné là, au moins dans les fermentations dans lesquelles on met une trace de levure comme semence, en présence de sucre, de matières minérales et d'un sel ammoniacal. On peut retirer d'un pareil liquide, une fois la fermentation terminée, des cellules vivantes et actives, en poids très notablement supérieur à celui de la semence, et formées d'une enveloppe de cellulose, dans laquelle se trouvent renfermées une masse protoplasmique azotée et des matières grasses. On trouve en outre, dissoute dans le liquide, une matière organique qui n'y existait pas auparavant. Cette cellulose et ces matières grasses ne peuvent provenir que du sucre ; la matière azotée est aussi un résultat de la réunion de l'azote du sel ammoniacal avec des produits provenant du sucre ; et il est évident que tout le sucre, consacré à ces divers usages, est perdu pour la production d'alcool, comme celui qui a servi à faire la glycérine et l'acide succinique.

Il est vrai que nous n'avons pas, *apriori*, le droit d'assimiler une fermentation lente et pénible, comme celle qui s'accomplit dans les conditions que nous venons d'indiquer, avec celles qui s'accomplissent dans de l'eau de levure ou dans les jus végétaux. Mais nous allons voir que, là aussi, nous allons retrouver le même phénomène, plus difficile à mettre en évidence à cause de la moins grande simplicité du point de départ, mais avec les mêmes caractères.

Formation des matières grasses. — La présence de ces matières a été signalée depuis longtemps par Braconnot dans la lie, qui n'est guère autre chose que la levure du vin. M. Payen en a trouvé 2 p. 100 dans la levure de bière et M. Nægeli encore davantage. On sait du reste qu'il y en a dans tous les végétaux. D'où vient celle que la levure possède ?

En mettant une trace de levure comme semence dans un milieu ne renfermant que de l'eau, du sucre candi très pur et de l'extrait d'eau de levure traité à plusieurs reprises par l'alcool et l'éther, M. Pasteur a obtenu une fermentation régulière, et recueilli à la fin quelques grammes de levure formée au

moyen de substances ne renfermant pas la plus petite quantité de matières grasses. Or cette levure renfermait néanmoins 1 ou 2 p. 100 de corps gras facilement saponifiables et à acides gras cristallisables. C'est donc le même résultat que dans le liquide de tout à l'heure, et nous sommes conduits à admettre que, dans un cas comme dans l'autre, c'est aux éléments du sucre que la matière grasse de la levure est empruntée.

Formation de la cellulose. — Nous allons arriver à la même conclusion pour la cellulose. Le problème est ici un peu plus difficile à cause de la difficulté qu'on éprouve à doser cette substance. On pourrait éluder cette difficulté en opérant comme précédemment, en ensemençant une trace de levure dans un liquide convenable, et en procédant au dosage approximatif de la cellulose dans la levure résultant de la fermentation. Toute celle qu'on trouverai serait évidemment de création récente.

M. Pasteur a abordé le problème autrement. Avec un poids de levure représentant 2gr,626 à l'état sec, il fait fermenter 100 grammes de sucre dissous dans 750 centimètres cubes d'eau pure, et recueille à la fin de la fermentation 2gr,965 de levure sèche. Il fait alors bouillir de six à sept heures, dans de l'acide sulfurique étendu de 20 fois son poids d'eau, d'un côté, ces 2gr,965 de levure sèche; de l'autre, un poids de levure fraîche égal à celui qu'il avait employé dans son expérience, c'est-à-dire à 2gr,626.

L'acide sulfurique laisse un résidu insoluble azoté et transforme en sucre la cellulose. Le résidu est desséché et pesé, le sucre dosé par la liqueur de Fehling. Voici les nombres trouvés :

	Poids de levure.	Poids du résidu azoté.	Proportion pour 100.	Poids de sucre. (cellulose).	Proportion pour 100.
Avant fermentation. . .	2gr,626	0gr,391	14,8	0gr,532	20,2
Après fermentation. . .	2 ,965	0 ,634	21,4	0 ,918	31,9

On voit non seulement que la quantité totale de cellulose a augmenté dans la fermentation, mais aussi que sa proportion dans la levure est devenue plus grande.

Nous retrouverons bientôt l'étude de ce second fait et aussi de ceux qui se rapportent au résidu azoté. Pour le moment, le premier seul nous intéresse. Il nous prouve que dans la fermentation de 100 grammes de sucre avec 2gr,626 de levure, il s'est fixé sur celle-ci environ 0,4 de matière hydrocarbonée, transformable par l'acide sulfurique étendu en sucre fermentescible.

C'est donc encore le même résultat que dans les fermentations accomplies dans un milieu purement azoté et minéral; et comme il est manifestement impossible de faire de la cellulose des globules, à la fin de notre fermentation, deux parts ayant chacune une origine distincte, on trouvera naturel d'admettre comme extrêmement probable, sinon comme certain, que la cellulose de tout globule de levure est constituée par les éléments du sucre.

Formation des matières albuminoïdes. — Nous voici arrivés à un point très délicat de cette étude. A propos des matières grasses et de la cel-

lulose, nous avons pu affirmer que les choses se passaient de la même façon quand le sucre fermente en présence d'un sel ammoniacal ou des matières albuminoïdes. Nous l'avons pu, parce que les matières grasses et la cellulose sont des individualités chimiques assez bien définies pour qu'on puisse les séparer, les doser et montrer qu'elles augmentent dans un cas comme dans l'autre.

Avec les matières albuminoïdes, cela ne nous est plus permis ; et lors même que nous constaterions que leur poids augmente pendant les fermentations ordinaires comme dans celles d'un liquide minéral et azoté, nous ne pourrions pas en conclure que les éléments du sucre sont intervenus dans leur formation, parce que ces matières sont en général des mélanges complexes de substances mal connues, et que rien ne prouverait que leur augmentation de poids n'est pas due à ce qu'elles se sont mélangées, pendant la fermentation, d'un ou plusieurs corps particuliers, dont aucun n'aurait de relation avec la matière azotée proprement dite. La glycérine et l'acide succinique, par exemple, si on ne les avait pas isolés, compteraient comme résidu azoté, et il suffit d'appliquer dans ces conditions le raisonnement que nous supposons fait plus haut, pour voir combien il est vicieux pour la matière albuminoïde, après avoir été excellent pour les matières grasses et la cellulose.

Nous sommes donc obligés de laisser de côté la question de savoir si le sucre doit se fixer sur les matériaux albuminoïdes offerts aux globules pour les rendre de nouveau assimilables; en d'autres termes, si le sucre entre dans la constitution de la matière azotée du globule. Si nous songeons à ce qui se passe dans les fermentations avec un sel ammoniacal, où le sucre intervient nécessairement, nous sommes conduits à résoudre cette question dans le sens affirmatif; mais il nous manque pour cela, dans le cas général, des preuves solides.

Quoi qu'il en soit, nous n'avons pas besoin d'entrer aussi intimement dans la connaissance du phénomène pour atteindre le but que nous poursuivons, et qui est d'établir une sorte de balance de comptes entre les phénomènes de la fermentation. Nous n'avons qu'à nous demander s'il y a pendant la fermentation une augmentation du poids des matériaux de la levure autres que ceux pour lesquels nous venons d'en constater; en d'autres termes, si l'augmentation totale du poids de la levure dépasse celle de la cellulose et des matières grasses.

Augmentation de poids de la levure pendant la fermentation. — Le fait de l'augmentation de poids de la levure, quand elle produit une fermentation dans un liquide organique approprié, est de connaissance ancienne et vulgaire. On retire du vin de grandes quantités de lie sans avoir visiblement introduit aucune trace de levure. Dans la fabrication de la bière, où le brasseur est obligé d'ajouter de la levure pour éviter que la fermentation ne dévie, il en recueille 5 ou 6 fois plus qu'il n'en a semé ; et il pourrait, à la rigueur, en récolter proportionnellement bien davantage, car théoriquement sa semence pourrait être composée d'une seule cellule vivante.

Mais on a cru longtemps que les choses étaient tout autres quand la levure produisait une fermentation sur du sucre dissous dans de l'eau pure. Les résul-

tats de Thénard, que nous avons signalés plus haut, avaient montré dans un cas 20 parties de levure réduites à 10, après avoir produit deux fermentations successives. On croyait que ce fait était le fait général, et on l'exprimait en disant que, dans ce cas, la levure agit en se détruisant, tandis qu'elle agit et se reproduit dans le cas de la fabrication de la bière.

Ce que nous savons déjà nous autorise à repousser l'établissement de cette différence théorique. La levure que nous mettons en présence d'une dissolution de sucre dans l'eau pure ne reste pas dans de l'eau pure. Aussitôt après son introduction, et plus rapidement si le liquide a des propriétés osmotiques, nous savons qu'elle cède au milieu environnant une partie de ses matériaux azotés et minéraux; de sorte que les globules nouveaux qui se forment se développent à l'intérieur d'un liquide organique approprié à leurs besoins, comme s'ils étaient plongés dans de l'eau de levure. Ce liquide peut être plus ou moins chargé qu'un autre, permettre un développement plus ou moins facile, plus ou moins abondant, mais il est partout de même nature, et la différence fondamentale que nous admettions tout à l'heure n'existe pas.

Voyons maintenant si la diminution de poids, qu'on dit avoir constatée dans ces conditions, est réelle. Pour le savoir, pesons la levure à l'entrée et à la sortie. Seulement, comme, pendant son séjour dans ce qui était primitivement de l'eau pure sucrée, elle a laissé se dissoudre des matériaux divers, albuminoïdes et salins, il sera juste de mettre à son actif le poids de l'extrait que nous trouverons dans le liquide, débarrassé de l'acide succinique et de la glycérine que nous savons provenir du sucre. Le reste viendra évidemment de la levure, ou au moins, si on ne veut pas accepter cette distinction, sera à ajouter au poids de la levure, pour que la différence entre le poids total de la levure à la sortie et le poids de la levure à l'entrée nous donne la quantité de sucre qui s'est fixée sur les matériaux de la levure pendant la fermentation.

En opérant ainsi, nous allons nous convaincre que, dans la fermentation des sucres en présence de l'eau pure, la levure se reproduit et augmente de poids comme dans tous les autres cas.

Voici sur ce sujet le résumé des observations de M. Pasteur :

	POIDS du sucre candi, cristallisé bien pur.	POIDS de levure lavée, à l'état frais en pâte plus ou moins molle.	POIDS de levure desséchée à 100 degrés	POIDS de levure déposée après la fermentation, desséchée à 100 degrés	POIDS de l'extrait, partie soluble de la levure restant dans le liquide fermenté, et insoluble dans le mélange d'alcool et d'éther.	SOMME des poids de la levure déposée après la fermentation et de l'extrait resté dans la liqueur fermentée.	EXCÈS de cette somme sur le poids de la levure mise en fermentation.	RAPPORT des poids avant et après la fermentation.
		gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	
A	100	20,000	4,626	3,230	2,320	5,550	0,924	1,2
B	50	10,000	2,213	2,001	0,819	2,820	0,607	1,2
C	100	16,000	4,604	4,385	non déterminé	»	»	»
D	100	10,000	2,313	2,486	1,080	3,566	1,253	1,5
E	100	13,700	2,626	2,965	0,964	3,929	1,303	1,5
F	100	6,254	1,198	1,700	0,631	2,331	1,133	1,9
G	16	3,159	0,699	0,712	non déterminé	»	»	»
H	4	1,474	0,326	0,335	*id.*	»	»	»
I	20	1,878	0,476	0,590	0,133	0,723	0,247	1,5

Il résulte des nombres de ce tableau que dans le cas où on emploie une quantité de levure en pâte, s'élevant à environ 15 ou 20 p. 100 du poids du sucre, on recueille après la fermentation moins de levure qu'on n'en avait mis: A, B, C. C'est précisément dans ces conditions que Thénard s'était placé: il avait employé 20 parties de levure en pâte pour 100 parties de sucre.

Mais lorsqu'on descend à un poids de levure en pâte qui n'est plus que 10 p. 100, et au-dessous, du poids du sucre, on recueille plus de levure qu'on n'en a employé : D, E, F, G, H, I.

Et, *dans tous les cas*, si on a soin de déterminer le poids de matière extractive azotée, provenant de la levure, qui est en dissolution dans la liqueur fermentée, on trouve qu'ajouté au poids de la levure après fermentation, il dépasse très sensiblement le poids total de levure primitif. Le rapport des poids varie de 1,2 à 1,9. Il peut par conséquent devenir presque double.

La disparition de la levure dans l'expérience de M. Thénard et dans toutes celles qu'on lui assimilait n'est donc qu'une disparition apparente. On a recueilli moins de levure qu'on n'en avait semé, parce qu'on en avait semé beaucoup, et que ce qui s'en était dissous avait été supérieur au poids des nouveaux globules formés. De là, et en ne tenant aucun compte du poids de la matière dissoute, la diminution apparente observée.

Mais l'augmentation est la règle; et au lieu d'être plus faible quand on ajoute moins de levure en présence de plus de sucre, et que cette levure se trouve par conséquent dans un liquide plus appauvri en éléments albuminoïdes nutritifs, c'est alors qu'il s'en forme proportionnellement le plus. La fermentation F qui, dans le tableau précédent, a fourni le chiffre le plus élevé pour le rapport des poids de la levure avant et après fermentation, est précisément cette fermentation avec épuisement de la levure, dont nous avons commencé à donner dans

les chapitres précédents les résultats numériques, et dont nous allons avoir bientôt à terminer l'étude.

Relations du sucre avec la levure. — Nous revenons maintenant à la question que nous nous étions posée tout à l'heure. Nous avons vu le sucre servir à la création de la cellulose et de la matière grasse de la levure. Intervient-il aussi dans la production de la matière azotée des globules, ou plutôt, pour mieux dire, de tout ce qui dans le globule n'est ni cellulose ni corps gras?

Pour le savoir, nous n'avons qu'à comparer l'augmentation de poids, telle qu'elle résulte du tableau précédent, avec celle qui résulte de l'augmentation que nous avons trouvée dans la cellulose et les matières grasses?

L'augmentation de la cellulose a été, dans le cas que nous avons cité et qui peut être considéré comme typique, de 0gr,4 pour 2gr,626 de la levure employée, soit de 15 p. 100 du poids de la levure et de 0,4 p. 100 du poids du sucre. Celle de la matière grasse, dont les globules ne contiennent pas plus de 4 p. 100 et qui entre à peine en dissolution, est négligeable. Or, nous trouvons dans le tableau précédent des augmentations de 20 à 90 p. 100 du poids de la levure à l'origine, et de 1,2 à 1,5 p. 100 du poids du sucre.

Nul doute par conséquent que le sucre n'intervienne aussi dans la formation de la masse protoplasmique enfermée à l'intérieur du globule, ou des matériaux solubles que la cellule de levure abandonne au milieu où elle produit une fermentation. Nous ne savons pas, comme nous l'avons dit plus haut, si c'est une pénétration réelle des éléments du sucre dans la construction de la matière albuminoïde. Bien que cela soit rendu très probable par le fait de l'organisation de ces matériaux quand la levure est dans un milieu où elle n'a à sa disposition que du sucre, des matières minérales et un sel ammoniacal, nous ne pouvons pas l'affirmer scientifiquement, et nous avons vu pourquoi. Mais qu'une partie du sucre soit employée à édifier les matériaux contenus dans le sac cellulosique du globule de levure, c'est ce que nous pouvons affirmer maintenant avec toute assurance.

Récapitulation. — Faisons, pour terminer, une récapitulation des divers usages auxquels le sucre doit suffire dans une fermentation, et des quantités moyennes usées pour ces divers emplois, et échappant par suite à l'équation fondamentale de Lavoisier et de Gay-Lussac.

Reprenons pour cela la fermentation dont nous avons commencé, au chapitre XXXII, de citer les résultats numériques. C'est la fermentation F du tableau précédent.

Nous avons déjà vu qu'il s'y était produit, pendant la fermentation de 100 grammes de sucre, 3gr,640 de glycérine et 0gr,673 d'acide succinique, en tout, 4gr,313 de matières hydrocarbonées puisées nécessairement dans les éléments du sucre.

Mais ce sucre a servi à d'autres usages. La levure pesait avant la fermentation 1gr,198. Après la fermentation, il y avait : 1° la levure déposée au fond du vase qu'on a recueillie sur un filtre taré et qu'on a pesée après l'avoir desséchée à 100°; 2° de la matière extractive qui est restée insoluble quand on a traité par le

mélange alcoolique éthéré pour dissoudre la glycérine et l'acide succinique, suivant la méthode indiquée au chapitre XXXI; 3° une autre portion de matière extractive dissoute par le mélange éthéro-alcoolique, mais qui peut être extraite en traitant le succinate de chaux par l'alcool à 80 degrés. En pesant, après dessiccation à 100 degrés, ces trois ensembles de matériaux, qui représentent ce qu'est devenue la levure après fermentation, on a trouvé :

Levure déposée	1gr,700
Extrait insoluble dans l'alcool et l'éther	0 ,631
Matière souillant le succinate de chaux	0 ,500
	2 ,831
Si l'on défalque le poids primitif de la levure	1 ,198
On trouve	1 ,633

qui est l'excès des poids de la levure et de ses matières solubles après la fermentation sur ce qu'ils étaient avant. 100 grammes de sucre ont donc cédé plus de 1 gramme et demi de matière à la levure, pour former sa cellulose et servir à ses mutations de tissus.

Ajoutons maintenant à ce chiffre celui de la glycérine et de l'acide succinique, nous trouvons :

Glycérine	3gr,640
Acide succinique	0 ,673
Cellulose et autres matériaux	1 ,633
	5 ,946

Nous trouvons donc déjà 6 p. 100 du sucre distraits de l'équation théorique de la fermentation. Est-ce là tout ? Nous allons voir qu'il y a encore une autre perte inévitable.

Comparons pour cela, comme l'a fait M. Pasteur, les formules du sucre, de l'acide succinique et de la glycérine.

Sucre fermentescible	$C^{12}H^{12}O^{12} = 180$	$C = 6$, $H = 1$, $O = 8$.
Acide succinique	$C^8H^6O^8 = 118$	
Glycérine	$C^6H^8O^6 = 92$	

On voit immédiatement que l'acide succinique est moins hydrogéné que le sucre, et que la glycérine l'est davantage, et qu'en faisant la somme des équivalents de l'acide succinique et de la glycérine, le carbone, l'hydrogène et l'oxygène se trouvent dans les rapports où ils existent dans le sucre.

En d'autres termes, si l'analyse des produits de la fermentation alcoolique nous avait donné des poids de glycérine et d'acide succinique qui fussent dans le rapport 92 glycérine et 118 acide succinique, il serait facile de comprendre comment le sucre peut être la source de ces deux produits. Mais, tout au contraire, le rapport des poids de la glycérine et de l'acide succinique, au lieu de $\frac{92}{118} < 1$, est à peu près $\frac{3,5}{0,7} = 5$.

Il est donc matériellement impossible que le sucre donne de l'acide succinique et de la glycérine dans les proportions précédentes, sans fournir en même

temps un autre produit soit beaucoup moins hydrogéné, soit beaucoup plus oxygéné que le sucre lui-même. Mais où rencontrer ce produit? A cause de la différence entre les proportions réelles de la glycérine et de l'acide succinique, et celles auxquelles conduit la comparaison de plus haut, il doit être en poids considérable, à moins qu'il ne soit très oxygéné, comme l'acide carbonique, auquel cas son poids pourrait être moindre.

L'analyse des produits de la fermentation n'y laisse guère prévoir l'existence de ce produit inconnu. M. Pasteur songea donc à chercher dans l'acide carbonique l'élément de compensation demandé; et, en opérant avec les soins les plus minutieux, par le procédé expérimental dont nous avons dit un mot au chapitre XXXI, il réussit, en effet, à prouver que 100 parties de sucre, distraction faite de 6 p. 100 environ que nous savons employés ailleurs, donnaient une quantité d'acide carbonique supérieure de 1 et demi p. 100 à celle qu'ils auraient dû fournir d'après l'équation

$$C^{12}H^{11}O^{11} + HO = 2C^4H^6O^2 + 4CO^2$$

En d'autres termes, la réaction qui donne l'acide succinique et la glycérine fournirait, prise à part, une certaine proportion d'acide carbonique. Nul doute que l'équilibre entre l'acide succinique et la glycérine d'une part, et le sucre de l'autre, ne soit rétabli par cet excès de gaz carbonique. Non seulement nous pouvions pressentir ce résultat par la différence des proportions de glycérine et d'acide succinique et l'absence de toute matière solide fort oxygénée parmi les autres produits de la fermentation; mais le dosage de l'acide carbonique seul établit matériellement qu'il se forme un volume de ce gaz supérieur à celui qu'exige l'équation de Lavoisier et de Gay-Lussac appliquée à tout le sucre qui peut la subir.

On voit combien se complique, à mesure que nous en poussons l'étude plus loin, un phénomène qu'on avait pris l'habitude d'envisager comme si simple. On peut dire qu'en moyenne, il y a de 5,6 à 6,5 p. 100 du sucre initial employés à d'autres usages que la production de l'alcool, et se distribuant ainsi

Glycérine	3,2 à 3,6 p. 100
Acide succinique.	0,6 à 0,7 —
Acide carbonique.	0,6 à 0,7 —
Cellulose et autres matières. . . .	1,2 à 1,5 —

C'est maintenant du côté de la portion notée cellulose et autres matières qu'il faut porter nos investigations. Une courte revue de l'état de la question nous indiquera ce qui a été fait et ce qui reste à faire.

Étude de l'extrait azoté de la levure. — La portion de la levure qui subit les modifications les plus profondes est certainement la partie azotée, la masse protoplasmique intérieure. Mais les moyens de distinction et de séparation des diverses matières albuminoïdes qui la constituent sont encore trop imparfaits pour qu'on puisse savoir exactement ce qui s'y passe. On n'a quelques renseignements que sur les éléments cristallisables qu'elle contient, et qui sont de plus facile étude que les autres. Ainsi, d'après M. Béchamp, la levure

fraîche ne contient ni leucine ni tyrosine, tandis qu'on en trouve des quantités sensibles dans tous les liquides fermentés.

Il est probable que la première partie de cette affirmation est trop absolue. D'après les résultats que j'ai obtenus dans l'étude des ferments des matières azotées, la leucine, la tyrosine, les matières, solubles dans l'eau et l'alcool, que l'on rassemble sous le nom commun *d'extrait*, sont le résultat d'un mécanisme fonctionnel, général et nécessaire à toute cellule vivante, je veux dire de sa nutrition aux dépens des éléments azotés. En même temps que la levure agit sur le sucre, elle consomme des matières albuminoïdes puisées dans sa substance, ou venues de l'extérieur suivant les cas, et les transforme en produits d'excrétion divers, parmi lesquels il y a toujours de la leucine, de la tyrosine. Ce mécanisme fonctionnel ne s'interrompant jamais tant que la cellule est vivante, la levure fraîche doit toujours contenir un peu de leucine et de tyrosine, qui sont sans doute en trop petite quantité pour cristalliser et échappent par suite à l'observation. Tout ce qu'on peut retenir de l'observation de M. Béchamp, c'est qu'elles existent en plus grande quantité à la fin d'une fermentation qu'au commencement, ce qui est conforme à l'idée que nous nous faisons de leur origine.

Nous trouverons au chapitre XXXV, lorsque nous aurons donné nos raisons d'assimiler ce que nous appellerons *autophagie* de la levure avec les phénomènes que subit le globule pendant qu'il produit une fermentation, de nouveaux faits relatifs aux mutations qui s'accomplissent dans les tissus azotés de la levure. Nous nous bornerons pour le moment à attirer l'attention sur un dernier produit de la fermentation, que nous avons à rattacher, comme nous venons de le faire pour la leucine et la tyrosine, aux phénomènes vitaux s'accomplissant dans la cellule, et à considérer comme des produits d'excrétion.

Production d'acides gras pendant la fermentation alcoolique. — Nous avons vu que Lavoisier avait considéré l'acide acétique comme un produit normal de la fermentation alcoolique. Il s'était trompé; et celui dont il avait observé la formation provenait certainement, nous le savons aujourd'hui, de l'intervention de quelque chose d'étranger au phénomène. Il s'en produit pourtant, mais en quantités très faibles. M. Béchamp l'a signalé le premier. M. Pasteur a confirmé l'observation, en la dégageant de l'incertitude que pouvait laisser sur elle la présence possible de levures étrangères, dont M. Béchamp ne s'était pas assez préoccupé. J'ai montré à mon tour que cet acide acétique et les traces d'acides homologues supérieurs qui l'accompagnent d'ordinaire, étaient de véritables produits d'excrétion de la levure.

Il s'en produit, en effet, dans la levure abandonnée à elle-même, sans l'intervention d'aucun aliment sucré. La levure du commerce en contient des quantités variables de $0^{gr},5$ à 2 grammes par kilogramme. Si on l'en dépouille par un lavage soigné, et si on l'étudie à nouveau au bout de quelques heures, on trouve qu'il s'y en est formé de nouvelles quantités, de poids comparable aux premières.

C'est que, comme nous le savons déjà, et comme nous aurons à l'étudier de plus près au prochain chapitre, la levure privée de sucre ne meurt pas de suite. La vie des cellules se continue pendant un temps plus ou moins long, aux dé-

pens des matériaux du globule lui-même. C'est précisément pendant ces mutations intracellulaires des tissus que l'acide acétique se forme, et les quantités produites sont assez exactement en rapport avec l'activité de la vie dans ces conditions.

Lorsque la quantité de levure est exagérée vis-à-vis de celle du sucre, la disparition du sucre devient très rapide; et, au moment où elle est complète, les globules, amorcés pour ainsi dire à une vie active, la continuent longtemps après que le sucre a disparu, et ne la laissent s'éteindre que peu à peu. On constate alors que la quantité d'acide acétique formé, faible pendant qu'il y a du sucre, s'accroît beaucoup à partir du moment où la fermentation proprement dite a cessé, et où ont commencé les mutations intracellulaires qui lui succèdent. Dans une expérience où j'avais mis à fermenter 200 grammes de sucre avec 1 kilogramme de levure, j'ai trouvé $1^{gr},20$ d'acide acétique dans la levure initiale, $1^{gr},30$ après la disparition complète du sucre, $2^{gr},10$ dans le liquide abandonné à lui-même pendant deux jours, pendant lesquels il s'était dégagé constamment de l'acide carbonique. La levure était restée pure pendant l'opération.

Nous avons vu au chapitre XXVIII que la présence du tartrate d'ammoniaque dans un liquide fermentescible artificiel imprime à la fermentation une activité remarquable, en rapport avec une rapidité, très grande aussi, dans la mutation des tissus. Corrélativement, on observe que la quantité d'acide acétique produite est plus grande dans ces conditions que lorsqu'on ne met pas de tartrate, et qu'elle augmente aussi beaucoup pendant la fermentation subséquente, qui succède à la vie accomplie aux dépens du sucre de la liqueur.

Ceci nous conduit à penser qu'il doit y avoir de l'acide acétique produit pendant la fermentation normale, car nous savons que, même dans des conditions très favorables, il y a toujours vie de la levure, c'est-à-dire mutation et désintégration de tissus. Mais les quantités sont variables, plus grandes, pour un poids donné de sucre ou de levure, lorsque le milieu est peu favorable que lorsqu'il est très nutritif, ce qui est d'accord avec l'interprétation proposée pour les phénomènes.

Les faits que nous rencontrerons au sujet des ferments des matières azotées nous autorisent même à particulariser davantage l'origine de l'acide acétique, et à l'attribuer uniquement au mécanisme de son alimentation en azote. Nous retrouverons, en effet, cet acide, et les acides homologues supérieurs, comme produit de l'action d'un grand nombre de cellules sur des aliments exclusivement azotés; et il est déjà certain que la levure a une nutrition azotée qui peut à la rigueur lui suffire, mais à laquelle elle superpose, à l'occasion, l'alimentation hydrocarbonée qui a surtout attiré l'attention. C'est de la première seule que semble provenir l'acide acétique qu'elle fournit. En d'autres termes, chez la levure, les acides gras produits ont la même origine que chez les ferments des matières purement azotées. D'autres analogies viennent à l'appui de cette idée.

Les acides gras peuvent être remplacés parfois, chez les ferments des matières azotées, par les acides de la série de l'acide oxalique. Nous avons déjà signalé l'oxalate de chaux comme produit de l'action de certaines mucédinées sur des éléments azotés et non azotés. Or M. Lermer en a signalé la présence dans les

produits de la fermentation. On le trouve quelquefois en beaux octaèdres dans la levure pressée et dans la levure de bière.

Les ferments des matières azotées produisent aussi d'une façon constante de l'ammoniaque plus ou moins mélangée d'ammoniaques composées. Nous avons déjà signalé de l'ammoniaque dans l'eau de levure, et Oser a signalé de même, dans les produits de la fermentation, un alcaloïde en très petites proportions, que sa trop facile décomposition l'a empêché d'étudier.

En résumé, tout nous invite à considérer la cellule de levure de bière comme une cellule vivante ordinaire, traduisant par les mêmes produits que les autres les phénomènes de mutation intime de tissus dont elle est le siège, et ressemblant, par exemple, aux ferments des matières azotées que nous apprendrons bientôt à connaître, quand on la force à vivre dans un liquide non sucré. Elle produirait alors de la leucine, de la tyrosine, de l'acide acétique, un peu d'ammoniaque, en détruisant les matériaux albuminoïdes mis à sa disposition. Placée en présence du sucre, elle prendrait en outre, sans discontinuer son premier mode d'existence, et même en l'activant, une fonction nouvelle, celle qui l'a fait connaître et apprécier, et dont les produits l'emportent de beaucoup en importance et en poids sur ceux de la première, mais sans rien leur enlever de leur valeur au point de vue de la philosophie naturelle.

BIBLIOGRAPHIE

Pasteur. — Mémoire sur la fermentation alcoolique.

Béchamp. — Sur l'acide acétique dans la fermentation alcoolique. *Comptes rendus*, t. LVI, p. 969, 1086, 1231, et t. LVII, p. 96, 1863.

Duclaux. — Sur la production d'acides gras pendant la fermentation alcoolique. *Annales de l'École normale supérieure*, t. I, 1865.

Béchamp. — Nouvelles recherches sur l'épuisement physiologique de la levure de bière. *Comptes rendus*, t. LXXVII, p. 645.

Lermer. — *Dinglers polytech. journal*, t. 11.

Oser. — *Sitzungsberichte der Wiener Akademie der Wissenschaften*, 1867.

CHAPITRE XXXIV

ÉQUATIONS DE LA FERMENTATION ALCOOLIQUE

Après tout ce que nous venons d'apprendre, la fermentation alcoolique doit nous apparaître comme un phénomène trop compliqué, comme résultant d'un ensemble d'actions trop connexes et trop multiples pour qu'on puisse en écrire la formule générale. La science n'a pas encore réussi à mettre en équation rigoureuse les actes chimiques de la vie dans les animaux supérieurs; on ne peut pas lui demander, à une époque aussi voisine de ses premières découvertes, d'être plus avancée en ce qui concerne les infiniment petits, où il faut reconnaître pourtant que la solution est plus facile à trouver.

Mais ce que nous ne pouvons pas faire pour l'ensemble des actes qui constituent la fermentation, nous pouvons l'essayer pour les deux plus importants, que nous pouvons isoler par la pensée, celui qui donne l'alcool et l'acide carbonique, et celui qui fournit la glycérine et l'acide succinique.

Pour la première transformation, nous avons l'équation fondamentale de Lavoisier et de Gay-Lussac, dont l'exactitude, comme nous l'avons vu, n'a jamais été vérifiée d'une façon rigoureuse, même pour la partie du sucre qui la subit, mais qui, dans les limites de variations qu'amènent les phénomènes vitaux de la fermentation, peut être considérée comme suffisamment approchée. Elle s'exprime, comme on sait, sous la forme suivante :

$$C^{12}H^{11}O^{11} + HO = 2C^4H^6O^2 + 4CO^2.$$

Si cette transformation était seule à intervenir, on trouverait pour les poids d'alcool et d'acide carbonique fournis par 100 parties des divers sucres fermentescibles, les résultats suivants :

		100 parties donneraient			
		Alcool.		Acide carbonique.	Total.
Glucose cristallisé,	$C^{12}H^{12}O^{12} + 2HO$.	46,46	+	44,40	90,86
Glucose anhydre,	$C^{12}H^{12}O^{12}$.	51,1	+	48,9	100,00
Sucre candi,	$C^{12}H^{11}O^{11}$.	53,80	+	51,46	105,26

Mais ce rendement en alcool n'est jamais atteint, nous avons vu pourquoi.

En moyenne, d'après M. Pasteur, 100 parties de sucre de cannes donnent :

Alcool	51,10
Acide carbonique	49,20
Glycérine	3,40
Acide succinique	0,65
Cellulose, matière grasse, etc.	1,30
	105,65

L'augmentation de poids pendant la fermentation est un peu plus grande que tout à l'heure, 105,65 au lieu de 105,26. Nous allons trouver l'explication de ce fait dans une fixation d'eau pendant la réaction qui fournit la glycérine et l'acide succinique.

Celle-ci est nécessairement un peu plus compliquée, et tout ce que nous pouvons nous proposer, c'est de trouver une équation qui soit une expression approchée des faits. Quant à l'équation rigoureuse, il faudrait, pour l'établir, y faire entrer le phénomène tout entier. Nous en séparons arbitrairement une partie, sans doute la plus importante, mais non la seule, et dont nous ne connaissons pas sans doute tous les détails, car nous n'avons pu isoler que ceux de ses produits qui interviennent pour une part appréciable à la balance ou aux mesures de volumes.

Tout ce qu'on peut demander, c'est que la balance matérielle, pondérale, entre le sucre et les principaux produits soit exacte, et, sous ce rapport, la correction des nombres de M. Pasteur est absolue. La science à ce sujet n'en serait pas moins faite, lors même qu'il serait impossible d'écrire dans une formule chimique les résultats de l'analyse. Comme nous le faisions remarquer plus haut, on ne *formule* pas un phénomène vital.

« Cependant, dit M. Pasteur, je reconnais que des doutes s'élèveraient sur l'exactitude de mes résultats, s'il n'était pas possible d'établir une équation entre le sucre et les principales matières qui accompagnent l'acide carbonique et l'alcool, puisque, de leur côté, ces deux derniers produits paraissent former équation avec une portion du sucre. C'est à ce point de vue et avec ces réserves que l'équation suivante mérite d'être mentionnée. »

On trouve que 4gr,5 de sucre candi, en se détruisant selon l'équation

$$\underset{\text{Sucre.}}{49C^{12}H^{11}O^{11}} + \underset{\text{Eau.}}{109HO} = \underset{\text{Ac. succinique.}}{12C^{8}H^{6}O^{8}} + \underset{\text{Glycérine.}}{72C^{6}H^{8}O^{6}} + \underset{\text{Ac. carbon.}}{60CO^{2}}$$

fournissent

Acide succinique	0,760
Glycérine	3,607
Acide carbonique	0,708
Total	5,075

Ces nombres, en ce qui concerne la glycérine et l'acide succinique, diffèrent peu de ceux de l'expérience, pour une fermentation de 100 grammes de sucre. Quant à la proportion de l'acide carbonique, c'est bien également celle qui est exigée par les données de la page 393. Cette équation peut aussi s'écrire

$$C^{12}H^{12}O^{12} + 48C^{12}H^{12}O^{12} + 60HO = 12C^{8}H^{6}O^{8} + 72C^{6}H^{8}O^{6} + 60CO^{2},$$

et en divisant tous les termes par 12

$$C^4H^1O^1 + 4C^{12}H^{12}O^{12} + 5HO = C^8H^6O^8 + 6C^6H^8O^6 + 5CO^2.$$

En l'envisageant sous cette forme, ne pourrait-on pas admettre qu'une petite quantité de cellulose, représentée par le poids $C^4H^1O^1$, intervient avec un poids de sucre égal à $4C^{12}H^{12}O^{12}$, pour former, en s'unissant à 5HO, les proportions voulues de glycérine, d'acide succinique et d'acide carbonique.

Enfin, M. Monoyer a essayé de substituer à cette formule une autre plus simple, en relation avec un fait que nous avons déjà signalé, mais que nous aurons bientôt l'occasion d'étudier de plus près, les besoins de la levure en oxygène. Il part de la formule du sucre candi

$$4C^{12}H^{11}O^{11} = C^8H^6O^8 + 6C^6H^8O^6 + 4CO^2 + 2O.$$

Ce serait cet oxygène, résultant de la réaction, qui servirait à la respiration de la levure. Aucun argument ne permet de repousser cette manière de voir. La proportion d'acide carbonique reste à peu près la même dans les deux réactions, et les différences sont dans les limites des erreurs d'analyse. Nous ne retrouvons pas trace ici de la petite augmentation de poids, motivée par l'adjonction de 5 équivalents d'eau, et qui cadre très bien au contraire, comme nous avons eu l'occasion de le faire remarquer p. 398, avec l'interprétation de M. Pasteur et les nombres fournis par l'analyse; mais, là encore, les variations normales d'une fermentation à l'autre rendent toute comparaison peu précise.

Mais si l'interprétation de M. Monoyer n'est pas formellement contredite par les faits, elle n'est pas non plus appuyée par eux. Il faut la signaler comme une vue de l'esprit et non la considérer comme une vérité démontrée.

C'est dans ces quelques notions que se résume tout ce que nous savons sur l'équation de la fermentation alcoolique véritable, c'est-à-dire de celle qui est provoquée sur le sucre par les cellules de levure de bière, dans les conditions où le poids de la levure n'augmente pas notablement. Il est évident que les équations que nous venons d'écrire ne s'appliquent pas aux cas où la levure se reproduit abondamment en présence de l'air et du sucre, et qu'à cet autre mode d'existence correspondent des phénomènes nouveaux. Il y a, comme nous l'avons vu, entre la levure végétal et la levure-ferment toute une série de transitions, correspondant chacune à une balance spéciale entre l'entrée et la sortie, et par conséquent à une, et même à plusieurs équations spéciales. Les derniers termes de la série seulement peuvent s'accommoder des nombres cités plus haut.

On peut faire des remarques et des réflexions analogues au sujet de l'infinie variété des phénomènes que nous connaissons déjà, et dans lesquels nous avons vu des cellules vivantes faire, aux dépens du sucre, de l'alcool et de l'acide carbonique, par exemple lorsque des feuilles et des fruits sont soustraits au contact de l'air. M. Pasteur a écrit à ce sujet, dans son livre sur la bière, une page intéressante que nous lui empruntons, parce qu'elle résume et précise avec autorité l'état de la science sur ces matières délicates.

« Lorsqu'on assimilait les fermentations à des décompositions par action de contact, on devait croire et on croyait réellement qu'il existait pour chaque

fermentation une équation fixe, déterminée, invariable. Aujourd'hui, il faut comprendre, au contraire, que l'équation d'une fermentation est essentiellement variable avec les conditions dans lesquelles elle s'accomplit, et que la recherche de cette équation est un problème aussi compliqué que celui de la nutrition chez un être vivant. Chaque fermentation a une équation qu'on peut assigner d'une manière générale, mais qui, dans le détail, est assujettie aux mille variations que comportent les phénomènes de la vie. En outre, autant de substances fermentescibles pourront servir d'aliment carboné à un même ferment, autant de fermentations distinctes pourront être provoquées par ce ferment, tout comme, chez un animal, l'équation de la nutrition varie avec la nature de ses aliments.

« En ce qui concerne la fermentation alcoolique, qui comporte plusieurs levures différentes, il existera, pour un sucre donné, autant d'équations générales qu'il y a de ces levures, que ce soient des cellules de levures proprement dites, ou des cellules d'organes d'êtres vivants, agissant à la manière de ces levures.

« C'est ainsi que l'équation de la nutrition n'est pas la même chez des animaux différents qui se nourrissent d'un même aliment. C'est pour cela qu'il existe un grand nombre de variétés de bières que fournit le moût de bière ordinaire, lorsqu'il est soumis aux nombreuses levures alcooliques que nous avons décrites.

« Ces remarques s'appliquent à tous les ferments : le ferment butyrique, par exemple, est capable de produire une foule de fermentations distinctes, parce qu il peut emprunter son aliment carboné à des produits très divers : sucre, acide lactique, glycérine, mannite, etc.

« Quand on dit que chaque fermentation a un ferment qui lui est propre, il faut entendre qu'il s'agit d'une fermentation considérée dans l'ensemble de tous ses produits : cette assertion ne peut signifier que le ferment dont il s'agit ne sera pas capable d'agir sur une autre substance fermentescible, et de donner lieu à une fermentation très différente.

« Il est encore tout à fait inexact de prétendre qu'un seul des produits d'une fermentation entraîne la présence d'un ferment déterminé. Trouve-t-on, par exemple, l'alcool au nombre des produits d'une fermentation, et même tout à la fois l'alcool et l'acide carbonique, cela ne signifie point que le ferment doive être une levure alcoolique des fermentations alcooliques proprement dites. La présence de l'acide lactique n'entraîne pas davantage la présence obligée de la levure lactique. Des fermentations distinctes peuvent, en effet, donner lieu à un ou même à plusieurs produits identiques. On ne pourrait affirmer qu'on a affaire à la fermentation alcoolique proprement dite, et qu'il doit y avoir présence de la levure de bière, qu'autant qu'on aurait constaté l'existence de tous les produits si nombreux de cette fermentation, et dans les relations qui la caractérisent pour les conditions où elle aurait eu lieu. »

Nous avons terminé, avec ce qui précède, l'étude de la fermentation alcoolique dans ses rapports pondéraux, c'est-à-dire dans ce qu'elle a de plus exclusivement chimique. Mais il nous reste à en examiner le côté le plus spécialement physiologique, et à nous demander, maintenant que nous savons un peu ce qui s'accomplit, comment et dans une certaine mesure pourquoi cela s'accomplit.

Si nous pouvons répondre à cette question, il en résultera une théorie de la fermentation, qui pourra, remarquons-le bien, être vraie ou fausse sans que les faits précédents soient entamés, puisqu'ils ont une base exclusivement expérimentale, mais qui nous permettra de les relier plus ou moins heureusement les uns aux autres, de les rattacher à un principe commun, enfin, d'arriver à une synthèse. Nous avons besoin pour cela de diverses notions nouvelles que nous allons développer.

BIBLIOGRAPHIE

Pasteur. — Mémoire sur la fermentation alcoolique. *Ann. de ch. et de phys.*, 3e s., t. LVIII.
Monoyer. — *Thèses de la Faculté de Strasbourg*, n° 624. 1862.
Pasteur. — *Études sur la bière*. Paris, 1876.

CHAPITRE XXXV

AUTOPHAGIE DE LA LEVURE

Lorsque, dans la mise en train d'une fermentation alcoolique, la quantité de levure employée ne dépasse pas 40 p. 100 du poids du sucre, la fermentation s'arrête toujours franchement. Tant qu'il se dégage une bulle de gaz, même à intervalles éloignés, on peut être sûr qu'il reste encore du sucre, facile à mettre en évidence par la liqueur de Fehling. Sitôt le dégagement arrêté, on peut être sûr qu'il n'y a plus de sucre. Il ne faut pour cela que mettre le liquide dans des conditions convenables de température.

Les choses se passent tout autrement quand le poids de levure devient plus voisin du poids de sucre. La fermentation, caractérisée par un dégagement de bulles gazeuses, continue après la disparition complète du sucre, et pendant un temps d'autant plus long que le poids de levure employée a été plus grand. Le volume d'acide carbonique recueilli dans ce cas dépasse le volume normal, dépasse même celui qui résulterait d'une transformation complète du sucre suivant la formule de Lavoisier et Gay-Lussac; et dans une expérience dans laquelle M. Pasteur avait fait fermenter du sucre avec environ vingt fois son poids de levure sèche, le volume d'acide carbonique dégagé a été égal à environ trois fois le volume théorique.

Lorsque, dans un liquide ainsi composé, on étudie la disparition du sucre, on constate qu'elle se fait à l'origine, ainsi qu'on pouvait s'y attendre. Si on interrompt la fermentation lorsqu'il s'est dégagé un volume d'acide carbonique égal ou très peu supérieur à celui qui correspond au poids de sucre employé, on ne trouve plus de sucre dans la liqueur. La levure exerce donc tout d'abord son action sur le sucre.

Mais, et surtout lorsque la dose de levure est exagérée, rien n'avertit, dans la marche du dégagement, que le sucre a disparu, et qu'une nouvelle action a commencé; ce n'est que peu à peu, quelquefois seulement au bout de vingt-quatre heures, qu'on aperçoit des traces de ralentissement. Si la levure est pure, si rien d'étranger n'intervient, la production de bulles gazeuses, tout en diminuant beaucoup, peut durer des mois entiers.

Le gaz, si la levure est pure, est et reste de l'acide carbonique pur. On est dès lors conduit à se demander si ce phénomène, consécutif à la fermentation principale, ne serait pas le résultat d'une véritable fermentation alcoolique s'exerçant sur les matériaux de la levure. Il n'y a qu'à faire pour cela un dosage soi-

gneux d'alcool.[1] Dans l'expérience à laquelle nous avons fait allusion plus haut, faite avec 0gr,424 de sucre candi, M. Pasteur a obtenu 0gr,6 d'alcool absolu, c'est-à-dire un poids supérieur à celui du sucre, et, en outre, en rapport avec le volume d'acide carbonique total, qui était, comme nous l'avons dit, à peu près le triple du nombre théorique.

Ainsi, la production d'alcool et d'acide carbonique, dans des proportions relatives qui ne sont sans doute pas exactement les proportions ordinaires, mais qui s'en éloignent peu, paraît jusqu'à un certain point indépendante de la présence du sucre dans le liquide qui baigne la levure. Ceci doit faire naître un scrupule. On doit se demander si, dans les fermentations que nous avons étudiées jusqu'ici, ce phénomène n'est pas intervenu. On peut diminuer beaucoup la dose de levure nécessaire à la fermentation de 100 grammes de sucre, l'amener à 1 gramme à l'état sec, ce qui, si la levure est pure, n'a d'autre effet que d'augmenter la durée du phénomène. Or, nous avons presque toujours dépassé cette dose minima; n'est-il pas à craindre, dès lors, qu'à la fin de la fermentation, il ne soit resté dans la levure un peu d'activité, lui permettant de vivre sur elle-même, et d'augmenter ainsi la proportion normale d'alcool et d'acide carbonique?

Il n'en est heureusement rien. En portant le poids de levure sèche à 8 p. 100 du poids du sucre, ou celui de levure en pâte à 40 p. 100, M. Pasteur n'a pas obtenu un volume de gaz supérieur à celui qu'indique un calcul rigoureux, tenant compte de l'acide succinique et de la glycérine. Or, nous n'avons jamais atteint ce chiffre. Ceci doit nous rassurer sur nos conclusions. Nous y trouvons encore, ce qui est intéressant au point de vue théorique, que pour agir sur elle-même, la levure ne doit pas avoir eu à faire fermenter trop de sucre.

La fermentation initiale, à l'aide de très petites quantités de sucre, que nous déterminions tout à l'heure, joue pour ainsi dire le rôle d'amorce, et c'est dans ces conditions que les phénomènes d'autophagie de la levure ont leur maximum d'intensité; mais cette fermentation préliminaire n'est pas nécessaire, ainsi que le montre une observation déjà ancienne que les faits précédents vont nous permettre d'interpréter.

Tous ceux qui ont manipulé de la levure savent que, délayée dans l'eau pure et abandonnée à elle-même, surtout pendant les chaleurs de l'été, cette matière laisse dégager des bulles de gaz, qui sortent péniblement de la masse et remontent à la surface du liquide qui la baigne, en entraînant avec elles un paquet de levure qui retombe lorsque la bulle a crevé. On expliquait ce phénomène par un commencement d'altération, de putréfaction, et on paraissait d'autant plus autorisé à porter ce jugement que la levure, ainsi conservée, présente en effet au bout de quelques jours, une odeur putride, et donne quelquefois un dégagement gazeux de plus en plus abondant.

Cette explication est pourtant inexacte. De la levure pure se comporte comme celle du commerce et avec encore plus d'intensité. De la bonne levure de brasserie qu'on préserve un peu de l'envahissement des ferments de la putréfaction, au moyen d'un peu d'acide phénique, suivant le procédé employé à l'origine par M. Béchamp, a une activité plus grande et plus durable que la levure abandonnée simplement à elle-même. Enfin, même dans celle-ci, le mou-

vement gazeux de l'origine peut être très vif sans que le microscope y décèle la moindre trace de ferments étrangers. De l'acide carbonique pur se dégage, ce qui est encore une preuve de pureté, les gaz putrides renfermant presque toujours de l'hydrogène, dont une portion devient de l'hydrogène sulfuré. Enfin, la proportion d'alcool ordinaire augmente de jour en jour. C'est un phénomène en tout semblable extérieurement à celui que nous envisagions tout à l'heure comme se produisant à la suite d'une fermentation de courte durée, et les deux faits doivent être rapprochés l'un de l'autre et rapportés à une origine commune.

Expériences de MM. Schutzenberger et Destrem. — Mais avant d'arriver à une interprétation des phénomènes, nous devons d'abord chercher à caractériser les modifications qui se produisent dans les tissus de la levure abandonnée ainsi à elle-même.

MM. Schutzenberger et Destrem les ont étudiés en comparant la composition initiale et finale de deux poids égaux de levure laissés pendant le même temps, vingt-quatre heures, dans une étuve à 30°, l'un abandonné à lui-même, l'autre en présence de deux fois son poids de sucre. Ce dernier, ainsi que nous l'avons vu plus haut, était déjà dans des conditions où la fermentation du sucre est suivie d'une fermentation subséquente.

Les nombres obtenus dans les expériences très soignées de MM. Schutzenberger et Destrem pouvant nous servir à vérifier et à préciser quelques-unes des notions que nous possédons déjà et à nous en donner de nouvelles, nous allons les reproduire en leur donnant une disposition différente. Dans le mémoire original, les compositions centésimales sont rapportées à la matière organique non privée de ses cendres. Celles-ci doivent être éliminées quand il s'agit d'étudier les mutations des tissus.

Chacun des lots de levure a été traité par l'eau bouillante, d'où pour chacun un résidu insoluble et un résidu soluble qui ont été tous deux analysés. Les tableaux suivants donnent pour chacun de ces lots :

Dans la colonne I et la colonne III, le poids total des éléments fournis par l'analyse organique pour les deux résidus;

Dans la colonne V, la somme de ces poids;

Dans les colonnes II et IV, la composition centésimale du résidu correspondant, cendres déduites.

Tous les nombres sont supposés rapportés à un poids égal à 100 de la levure initiale.

100 parties de levure fraîche contenant

	Résidu insoluble.		Résidu soluble.		Somme.
	I	II	III	IV	V
Cendres	0gr,21	»	2gr,02	»	2gr,23
Carbone	0 ,60	51 ,0	3 ,16	68 ,4	13 ,76
Hydrogène	1 ,48	7 ,1	0 ,35	7 ,6	1 ,83
Azote	2 ,20	10 ,6	0 ,61	13 ,2	2 ,81
Oxygène	6 ,50	31 ,3	0 ,50	10 ,8	7 ,00
	20 ,99	100 ,0	6 ,64	100 ,0	27 ,63

donnent, après avoir agi vingt-quatre heures sur 200 grammes de sucre :

	Résidu insoluble.		Résidu soluble.		Somme.
	I	II	III	IV	V
Cendres.	0gr,25	»	1gr,84	»	2gr,09
Carbone.	9 ,27	49 ,8	7 ,75	45 ,2	17 ,02
Hydrogène.	1 ,34	7 ,2	1 ,30	7 ,5	2 ,64
Azote.	1 ,50	8 ,0	1 ,20	7 ,0	2 ,70
Oxygène.	6 ,64	35 ,0	7 ,91	40 ,3	14 ,50
	19 ,00	100 ,0	20 ,00	100 ,0	38 ,95

et, après avoir été abandonnées vingt-quatre heures sans sucre :

	Résidu insoluble.		Résidu soluble.		Somme.
	I	II	III	IV	V
Cendres.	0gr,28	»	1gr,94	»	2gr,15
Carbone.	9 ,18	52 ,8	2 ,86	44 ,3	12 ,04
Hydrogène.	1 ,41	8 ,2	0 ,48	7 ,4	1 ,89
Azote.	1 ,62	10 ,2	0 ,88	13 ,6	2 ,63
Oxygène.	5 ,04	28 ,8	2 ,24	34 ,7	7 ,15
	17 ,53	100 ,0	8 ,40	100 ,0	25 ,86

Ces tableaux nous fournissent plusieurs indications intéressantes.

Si nous examinons d'abord les colonnes V des deux premiers, nous reconnaissons :

1° Dans les dernières lignes de chacune d'elles, l'augmentation notable du poids de cellules vivantes qui résulte de la fermentation, ou plutôt de la vie en présence du sucre;

2° Dans l'augmentation proportionnellement très grande des chiffres relatifs au carbone, à l'hydrogène et à l'oxygène, le fait, que nous connaissions déjà, de la fixation sur les tissus de la levure d'un élément hydrocarboné;

3° Dans la diminution faible du chiffre de l'azote, un fait en relation avec ce que nous savons sur l'élimination de ce corps pendant la fermentation. Le phénomène est seulement ici peu marqué, la fermentation ayant été courte et rapide; mais la teneur en azote de la levure a notablement diminué pendant la fermentation, par suite de la fixation des éléments du sucre, signalée plus haut.

La comparaison des chiffres relatifs à l'azote dans les colonnes II et IV des deux mêmes tableaux montre que cet appauvrissement en azote a porté également sur les substances insolubles et les substances solubles dans l'eau bouillante, mais plus spécialement sur celles-ci. C'est encore un fait en rapport avec l'appauvrissement en azote de la levure et l'enrichissement du liquide dans les fermentations.

La comparaison des mêmes chiffres dans les colonnes I et III prouve ce que nous avions déjà signalé, que l'effet de la fermentation est de rendre soluble l'azote déposé à l'état insoluble dans les tissus de la levure.

Enfin il nous reste encore à signaler, comme résultat intéressant et imprévu,

l'augmentation notable de la proportion et de la quantité absolue d'oxygène dans le résidu soluble, après la fermentation.

Si nous comparons maintenant, sous les mêmes points de vue, le premier et le dernier tableau, nous voyons d'abord, en rapprochant les derniers chiffres des colonnes V, qu'au lieu d'augmenter de poids, comme elle le faisait tout à l'heure, la levure a diminué pendant cette opération. La perte, ainsi qu'il est facile de s'en assurer, a porté surtout sur le carbone, et s'est à peu près également répartie sur le carbone du résidu soluble et sur celui du résidu insoluble. Ce fait est d'accord avec le dégagement constaté d'acide carbonique. Quant à l'oxygène, il a été sans doute fourni soit par l'air, soit par la levure elle-même.

Une petite erreur dans les chiffres de l'oxygène de l'une des colonnes I, III ou V empêche une conclusion plus précise; tout ce qu'on peut dire, c'est que la partie soluble, après fermentation et macération, est moins riche en carbone et plus riche en oxygène, plus brûlée par conséquent que la partie insoluble, tandis que c'est l'inverse dans la levure fraîche. L'effet de la vie, dans cet organisme microscopique comme dans les autres, est donc d'oxyder une portion des matériaux qui, à raison de leur solubilité, sont précisément les matériaux d'élimination.

Envisagés en eux-mêmes, les deux phénomènes, si différents en apparence, de macération et de fermentation, reviennent à oxyder la portion soluble dans l'eau chaude du globule aux dépens de l'autre partie. Ils se ressemblent donc sous ce point de vue.

Ils paraissent différer du tout au tout en ce qui concerne l'azote; ce corps ne paraît jouer aucun rôle actif dans le phénomène de la macération. C'est ce que la façon dont nous avons calculé les nombres des colonnes II et IV met tout à fait en évidence. Ces nombres se retrouvent à peu près identiques pour l'azote dans le premier et le troisième tableau, dans la composition centésimale des résidus. Ils diffèrent au contraire notablement dans le second tableau, mais il faut tenir compte de l'augmentation de poids due à l'adjonction en proportion notable des éléments du sucre, comme nous l'avons indiqué. Si l'on consulte la distribution pondérale de l'azote, pour éviter cette difficulté, on constate, malgré une petite erreur de chiffre qui est encore à signaler ici, que le passage de l'azote de la partie insoluble à la partie soluble est plus notable dans le cas de la fermentation que dans le cas de la macération, ce qui est encore d'accord avec ce qu'on aurait pu prévoir de la vie plus active de la levure dans le premier cas.

En résumé, le travail que nous analysons prouve par des chiffres quelques-uns des résultats et est d'accord avec quelques-unes des conceptions de nos études antérieures sur la fermentation. Il établit en outre entre les mutations qui se produisent chez la levure abandonnée à elle-même, ou mise en présence du sucre, des rapports bien dignes d'intérêt. Des deux grands phénomènes d'assimilation et de désassimilation qu'exige le maintien de la vie, le premier l'emporte chez la levure en présence du sucre, et entraîne le second dans son accroissement. Ce second phénomène est à son tour plus marqué dans la levure abandonnée à elle-même; et bien que le premier ne disparaisse pas totalement, car l'un ne peut aller sans l'autre, comme le prouve d'ailleurs la

prolifération des cellules visible quelquefois au microscope, son influence et ses résultats sont complètement masqués par ceux du premier. Mais dans tous les cas, c'est la même vie qui continue, la même cellule qui assimile et désassimile ; et ce que nous venons d'apprendre confirme cette conclusion, en désaccord avec nos vues actuelles, que la décomposition du sucre en acide carbonique n'est pas un fait *extérieur* à la cellule, mais le résultat d'une action qui s'exerce profondément à l'intérieur de ses tissus, et qui, soit que la cellule se soit constituée une réserve alimentaire, soit par tout autre mécanisme, se continue après que le sucre a disparu, sans changer notablement de nature.

Dans tout ce qui précède, nous avons appliqué, à la suite de MM. Schutzenberger et Destrem, le mot de fermentation au phénomène qui se produit dans notre levure mise en contact avec le double de son poids de sucre. Ce mot peut induire en erreur sur la nature vraie de l'action qui se produit. La levure venant de l'air, mise dans un liquide aéré et avec aussi peu de sucre, est à peu près dans les conditions où nous nous sommes placés quand nous avons voulu cultiver chez elle le végétal, en supprimant le ferment. S'il y a fermentation et reproduction actives dans nos expériences actuelles, il y a aussi nutrition. Ce qui le prouve, c'est que le poids sec de cellules vivantes, avant et après fermentation, s'est accru, comme le prouvent les nombres du tableau qui précède, dans le rapport de 38,95 à 27,63, soit de 140 p. 100 ; et il faudrait augmenter ce nombre déjà très élevé, si l'on y faisait entrer, comme cela est nécessaire, le poids des matériaux de la levure solubles à froid et abandonnés par elle dans le liquide nourricier. Il y a peut-être eu, en somme, dans ces expériences, pour 100 grammes de levure introduite, 150 ou 160 grammes de levure produite, dont 140 environ à l'état de cellules, et le reste en matériaux dissous. Ce sont là des proportions qui se rapprochent de celles que nous avons obtenues dans nos essais de reproduction et de culture de la levure végétale.

La seule différence est que, dans nos essais, nous donnions à la levure un aliment extérieur, tandis qu'actuellement elle est obligée, qu'elle ait du sucre ou qu'elle n'en ait pas, de vivre sur elle-même et sur les matériaux qu'elle apporte. De là cette sorte de liquéfaction du résidu primitivement insoluble, dont nous venons de démontrer l'existence, cette augmentation très notable du poids des éléments du globule solubles dans l'eau chaude, et cette diminution proportionnelle du poids de ce que MM. Schutzenberger et Destrem appellent résidu insoluble.

Ce dernier résidu décroît, même lorsqu'il y a présence du sucre, mais un peu moins que lorsque la levure est abandonnée à elle-même. On peut, comme l'ont aussi montré MM. Schutzenberger et Destrem, le faire décroître davantage, et l'amener à être inférieur à ce qu'il est avec la digestion seule, en lavant à l'avance la levure employée, et la débarrassant ainsi, aussi bien que possible, de ses éléments solubles dans l'eau froide. Cette levure lavée, bien qu'évidemment un peu atteinte dans sa vitalité, dégage encore de l'acide carbonique lorsqu'elle est délayée dans l'eau et mise à l'étuve. Mais ses mutations de tissus sont moins rapides qu'avec la levure non lavée. Mise en présence du sucre, elle se reconstitue de son mieux, et le même phénomène que tout à l'heure recommence, avec cette différence que les nouveaux globules, ayant moins d'azote à

leur disposition qu'avec la levure non lavée, épuisent plus profondément la matière azotée restée primitivement insoluble dans les globules du début, lors de leur lavage à l'eau froide. Le poids de la portion de ces globules, insoluble dans l'eau bouillante, après fermentation, peut alors devenir plus faible que dans le cas de la macération seule, parce que la vie a été plus active et a nécessité un épuisement plus parfait des matériaux disponibles. C'est ce que prouvent les nombres suivants, qui se rapportent à 100 grammes de levure fraîche lavée, et qui indiquent ce qu'est devenu, après transformation de 200 grammes de sucre en vingt-quatre heures, et après macération de vingt-quatre heures, le poids total du résidu insoluble et la quantité d'azote qui y est contenu.

	Levure initiale.	Levure après fermentation.	Levure après macération.
Résidu insoluble dans l'eau bouillante.. .	18gr,4	13gr,2	15gr,84
Azote contenu.	1 ,895	0 ,854	1 ,71
Perte en résidu.	»	5 ,2	2 ,6
Perte en azote.	»	1 ,04	0 ,18

On voit que la perte totale et la perte en azote sont plus grandes dans le cas où il y a du sucre, mais il n'y a là, quoi qu'en disent MM. Schutzenberger et Destrem, rien qui soit en désaccord avec notre manière de concevoir le phénomène. La proportion d'azote empruntée au résidu pendant la fermentation est énorme. Si l'on supposait qu'il fait partie d'une matière albuminoïde véritable, renfermant 15 p. 100 d'azote, le poids de cette matière albuminoïde serait de 6gr,5, supérieur par conséquent à la perte réelle. De là la conclusion qu'il doit y avoir eu un apport de matière de l'extérieur, venant évidement du sucre. Malgré l'incertitude évidente de ce mode de calcul, on voit que nous retrouvons ici la fixation du sucre sur la levure; et si MM. Schutzenberger et Destrem avaient mesuré, dans ce cas comme dans le précédent, l'augmentation totale de poids du résidu insoluble et du résidu soluble dans l'eau chaude, mieux encore, s'ils y avaient ajouté l'étude du poids de matière dissoute dans le liquide après fermentation, ce résultat eût été plus évident. La nutrition de la levure s'est produite dans ce cas comme dans tous ceux qui précèdent. Il n'y a de nouveau qu'une inégale intervention des éléments primitifs, les globules nouveaux ayant davantage recherché ceux dont ils avaient le moins à leur disposition. C'est là une notion qui est trop d'accord avec le sens général des phénomènes que nous étudions pour que nous ayons pu la négliger.

Produits de l'autophagie de la levure. — Nous avons demandé à l'analyse élémentaire de la levure les renseignements qu'elle était seule en état de nous fournir, au sujet des migrations que subissent pendant l'autophagie les divers éléments du globule. Une analyse immédiate, bien faite et complète, nous conduirait certainement à des résultats plus intéressants, en nous montrant à la fois le combien et le comment de ces mutations. Malheureusement, elle est impossible dans l'état actuel de la science, et ne s'applique guère, et encore avec quelles incertitudes, qu'aux derniers produits de transformation vitale des matières albuminoïdes, à ceux qui, à raison de la moindre

complexité de leurs molécules, peuvent prendre l'état cristallin, sont plus ou moins assimilables aux amides, et précèdent immédiatement les sels ammoniacaux dans l'échelle de destruction des matériaux azotés.

Toutefois, nous n'avons pas le droit de négliger ces données de l'analyse immédiate, malgré leur caractère imparfait. Nous allons donc abandonner de la levure à elle-même, comme l'ont fait M. Béchamp d'abord, M. Schutzenberger ensuite, pendant un temps suffisant pour que son épuisement physiologique soit porté à ses dernières limites, et nous étudierons les produits qu'elle aura laissés passer en dissolution dans le liquide qui la baigne ou qu'elle a exsudés. Il faudra seulement éviter l'intervention de cellules étrangères à celles de la levure; c'est un point sur lequel il faut dire tout de suite que ni M. Béchamp ni M. Schutzenberger n'ont assez insisté. M. Béchamp a compté, pour arriver à ce résultat, sur l'action de l'acide phénique, qui n'empêche pas, d'une façon absolue, des êtres nouveaux de s'implanter dans une masse de levure, mais qui surtout n'empêche pas d'agir les cellules de diverse nature que renferme toujours la levure de brasserie employée par ce savant. M. Schutzenberger employait aussi de la levure du commerce, mélangée quelquefois, comme il l'indique lui-même, de ferment lactique. Il ne la protégeait par aucun antiseptique, et se contentait de vérifier qu'à la fin de l'expérience la levure n'avait pas d'odeur putride. Mais l'envahissement d'une masse de levure par les ferments peut être complet avant que la putréfaction se développe, et même sans qu'il se développe aucune putréfaction. Toutefois, si ces causes d'erreur ont pu intervenir dans certains cas, et peuvent servir à expliquer certaines affirmations trop absolues, elles laissent intacts, croyons-nous, les faits que nous avons maintenant à résumer.

Travaux de M. Béchamp. — M. Béchamp a signalé dans les produits d'épuisement de la levure, outre l'alcool, de l'acide acétique, de l'acide carbonique, et aussi de l'azote dont l'existence normale nous paraît très douteuse :

1° Une albumine différente de l'albumine des œufs et se rapprochant de la caséine, soluble comme elle dans le carbonate de soude après sa coagulation, précipitée de cette solution par l'acide acétique, comme la caséine;

2° De la sucrase, qui était déjà connue;

3° Une substance gommeuse fournissant de l'acide mucique sous l'action de l'acide nitrique, mais qui diffère de la gomme arabique en ce qu'elle est dextrogyre. Elle est saccharifiable par l'action de l'acide sulfurique étendu, mais plus difficilement que la gomme arabique. Elle ne réduit pas plus que la gomme le réactif cupropotassique, mais elle donne avec lui un coagulum volumineux, qui se contracte en une combinaison cuivrique bleue dès que l'on chauffe. Dans les mêmes conditions, la gomme ne donne rien de semblable. M. Béchamp a vainement cherché ce corps dans les produits de fermentation du sucre, et dans l'eau de levure fraîche. Il est probable qu'il faut le rapprocher des matières solubles dans l'eau chaude que nous avons rencontrées, au chapitre XXVI, dans les analyses de M. Nægeli. C'est un produit de la liquéfaction et de la désassimilation de l'enveloppe extérieure du globule de bière sous l'influence de l'inani-

tion, ce qui explique son absence, toute relative, remarquons-le, dans les circonstances signalées par M. Béchamp;

4° De la leucine et de la tyrosine qui avaient déjà été signalées par MM. Muller et Hesse dans les produits de la levure putréfiée, mais non dans les produits de la cellule de levure abandonnée à elle-même;

5° Enfin un résidu sirupeux incristallisable qui a été soigneusement étudié par M. Schutzenberger.

Travaux de M. Schutzenberger. — La levure sur laquelle M. Schutzenberger a opéré contenait, fraîche, 29 à 30 p. 100 de matière solide. Elle abandonnait au lavage à l'eau bouillante de 8 à 9 p. 100 de matériaux divers. Elle en abandonnait 17 à 18 p. 100, c'est-à-dire environ 10 p. 100 en plus, après avoir été abandonnée sous l'eau, pendant douze à quinze heures, à une température de 35° à 40°.

Ce dernier liquide de lavage est concentré au bain-marie à consistance sirupeuse, et se prend, par refroidissement, en un magma cristallin qu'on fait bouillir pendant quelque temps, dans un ballon, avec un grand excès d'alcool à 92 degrés. Il se sépare une masse poisseuse foncée qui se colle aux parois du vase, et qui contient de la tyrosine et une matière gommeuse identique à celle de M. Béchamp. La solution alcoolique évaporée donne, par refroidissement, un abondant dépôt de leucine, mélangée d'un peu d'une matière sulfurée et de tyrosine.

Lorsque, par une nouvelle évaporation, il ne se dépose plus de leucine, on distille les eaux-mères au bain-marie pour chasser l'alcool, on étend d'eau le résidu, et on l'additionne d'eau de baryte pour éliminer les phosphates. On enlève l'excès de baryte dans le liquide filtré, au moyen d'acide carbonique. On fait ensuite bouillir avec un excès d'acétate de cuivre. Il se forme un précipité floconneux. On filtre, on ajoute de l'alcool en excès et au besoin de l'acétate de cuivre; on obtient ainsi un nouveau précipité blanc bleuâtre soluble dans l'eau, et qu'il faut laver avec de l'alcool étendu. Ce précipité, traité par l'hydrogène sulfuré qui sépare le cuivre, fournit encore un peu de gomme.

Le liquide qu'on en a séparé par filtration est distillé pour en chasser l'alcool, traité par l'hydrogène sulfuré pour en séparer le cuivre, concentré et repris par l'alcool, qui ne laisse qu'un résidu de leucine, probablement mélangée d'un peu de butalanine. Le liquide alcoolique ne laisse à son tour, comme résidu, qu'un sirop incristallisable azoté et de saveur sucrée, dont l'étude n'a pas été poussée plus loin.

C'est le précipité floconneux que nous avons obtenu tout à l'heure par ébullition avec de l'acétate de cuivre, qui est le plus riche en éléments nouveaux, et fait l'intérêt du travail de M. Schutzenberger. On le lave à l'eau chaude, et on le traite à chaud par l'acide chlorhydrique étendu, où il se dissout presque complètement, à l'exception de flocons noirs de sulfure de cuivre. La solution chlorhydrique filtrée chaude dépose, par refroidissement, une grande partie de la combinaison cuivrique qu'elle avait dissoute.

Le dépôt, lavé et décomposé par l'hydrogène sulfuré, fournit de la carnine qu'on purifie par dissolution dans l'eau chaude, et cristallisation par refroidis-

sement, en décolorant au besoin par un peu de charbon animal lavé. Cette carnine $C^7H^8Az^4O^3$ avait été découverte par Weidel dans l'extrait de viande Liebig, ce qui prouve qu'elle est le résultat de la vie d'autres cellules vivantes que celles de la levure. Elle se transforme en sarcine sous l'influence de l'acide azotique ou de l'eau de brome.

Aussi, lorsqu'on dissout, dans de l'acide nitrique, au lieu d'acide chlorhydrique, le précipité floconneux fourni par l'acétate de cuivre, et qu'on précipite ensuite par l'ammoniaque et le nitrate d'argent, on obtient, en lavant d'abord avec de l'eau ammoniacale le précipité blanc produit, et en le faisant ensuite cristalliser par refroidissement dans de l'acide nitrique bouillant à 12° B., un corps blanc qu'il suffit de décomposer en présence de l'eau par l'hydrogène sulfuré pour en isoler la sarcine. Le liquide filtré est concentré après addition d'ammoniaque; la sarcine se sépare en fines aiguilles quand l'excès d'ammoniaque est parti. Mais cette base est sans doute le résultat de l'oxydation qu'a subie pendant l'opération, sous l'influence de l'acide nitrique, la carnine, qui est toujours prédominante dans le précipité cuivrique, et elle ne doit pas être comptée, jusqu'à plus ample informé, parmi les éléments de désassimilation du globule de levure.

Il n'en est pas de même de deux autres bases qu'on trouve dans l'eau-mère chlorhydrique qui a déposé la combinaison cuivrique de carnine. Privée de cuivre par l'hydrogène sulfuré et concentrée, cette eau-mère fournit, d'abord, des cristaux bien caractérisés de chlorhydrate de xanthine, puis, par concentration du liquide décanté à froid, des cristaux de chlorhydrate de guanine, d'où on extrait la guanine, en précipitant par l'ammoniaque, qui dissout l'excès de xanthine pouvant encore s'y trouver.

M. Schutzenberger n'a pas décelé d'autres bases que celles que nous venons d'énumérer. Il n'a réussi à trouver ni urée, ni acide urique, ni créatine, ni créatinine. Il n'a pas recherché la présence de l'inosite ni de l'acide inosique.

Nous sommes donc obligés de borner là notre étude sur les produits cristallisés de l'épuisement de la levure. Pour en compléter les enseignements, nous aurions encore à examiner la filiation des produits que nous avons découverts, et la façon dont on peut les faire dériver les uns des autres. Mais c'est là une notion que nous n'avons pas encore assez d'éléments pour développer. Elle trouvera plus naturellement sa place à la fin de l'étude sur les ferments des matières azotées; et la conclusion à laquelle elle nous conduira sera, comme nous le verrons, tout à fait d'accord avec celle à laquelle nous a amenés, dans le présent chapitre, notre discussion des résultats de l'analyse élémentaire, à savoir, que les produits d'autophagie de la levure sont le résultat d'oxydations successives, avec adjonction, dans certains cas, des éléments de l'eau, subies par les matériaux constitutifs de la cellule.

Relation des phénomènes d'autophagie avec les phénomènes de vie normale. — Nous avons, pour terminer ce sujet, une dernière question à nous poser. L'autophagie de la levure est-elle un fait essentiellement distinct des phénomènes de la vie normale. Nous avons déjà quelques raisons de croire que non. Nous avons vu que les deux modes de vie passaient

insensiblement de l'un à l'autre, et se succédaient sans qu'on pût observer, dans l'aspect de la levure et son mode de prolifération, rien qui traduisît à l'œil le changement d'existence; nous avons vu aussi que les produits étaient les mêmes dans les deux cas, et que pendant l'autophagie les proportions d'alcool et d'acide carbonique étaient très voisines des proportions normales. Nous pouvons ajouter qu'il en est de même pour les produits secondaires de la fermentation, tels que l'acide acétique que nous avons trouvé formé dans les deux modes d'existence. Enfin les corps dont nous venons de constater la formation pendant l'autophagie se retrouvent presque tous dans les liquides de fermentation normale; et si nous ne les avons pas recherchés surtout dans ces liquides, de beaucoup plus abondants comme matière première, c'est qu'ils y sont en somme moins abondants et, par suite, moins faciles à isoler.

Une seule différence paraît séparer ces deux modes d'existence, c'est la nature de la source à laquelle ils puisent. Dans la fermentation normale, c'est évidemment le sucre qui est consommé. Mais quel est l'aliment dans l'autophagie? Nous avons vu M. Schutzenberger trouver dans la levure une matière sucrée, mais elle est évidemment en trop faible quantité pour pouvoir expliquer le phénomène. Dans ses premiers travaux sur ce sujet curieux qu'il avait découvert, M. Pasteur avait cru pouvoir attribuer les proportions assez notables d'acide carbonique et d'alcool qu'il avait observées, à la consommation et à la destruction d'une portion de la cellulose des vieux globules, que les jeunes détruiraient en vertu de la puissante activité vitale inhérente à la jeunesse. Cette explication n'était ni imprévue, ni isolée; quand un noyau de datte germe, il y a certainement une partie de sa cellulose liquéfiée pour servir à la nutrition de la jeune plante.

Dans sa critique des travaux de M. Pasteur, Liebig confirma d'abord le fait de la production d'alcool pendant l'autophagie, et trouva même au phénomène une activité dont il nous faut prendre une idée en lui empruntant quelques-uns de ses nombres :

I. 1500^{cc} de levure délayée avec soin dans de l'eau et équivalant à 147 grammes de levure sèche ont donné, au bout de dix-huit heures, 11 gr, 98 d'alcool anhydre.

II.	1200^{cc} =	48,9 de levure sèche donnèrent au bout de	36 heures,	6,28 d'alcool.
III.	1200^{cc} =	91,5 — —	24 —	8,23 —
IV.	1000^{cc} =	78,2 — —	18 —	6,66 —
V.	1000^{cc} =	100,6 — —	36 —	13,90 —

Mais il fit observer que ces proportions d'alcool atteignaient presque et dépassaient quelquefois la proportion d'alcool que pouvait donner la totalité de la cellulose de la levure employée, en admettant que la proportion de cellulose dans cette levure fût celle qu'admettait M. Pasteur, 18,76 p. 100. Or la raison et l'observation disaient que les globules, après l'expérience, avaient tous conservé leur enveloppe de cellulose.

Nous avons le droit de repousser cet argument qui avait paru topique, depuis que nous savons, par les expériences de M. Nægeli, qu'il y a dans la levure une substance hydrocarbonée, produit intermédiaire entre la dextrine et les gommes, et dont la proportion est au moins égale à celle de la vraie cellulose, de sorte qu'il y a dans ce mucilage, et dans les portions les moins résistantes de

cet ensemble complexe que les réactifs respectent, et que nous appelons cellulose, de quoi expliquer les proportions considérables d'alcool trouvées par Liebig pendant l'autophagie.

Mais cette conception, à son tour, nous permet d'établir, entre l'autophagie et les phénomènes normaux de la vie de la levure, des rapprochements bien dignes d'intérêt. Elle va droit, en effet, à supprimer la seule différence que nous signalions tout à l'heure entre ces deux modes d'existence: la différence dans la nature de l'aliment.

Tout ce que nous savons, en effet, sur les phénomènes de vie végétale et animale, nous prouve que c'est dans le protoplasma des cellules que se produisent les phénomènes profonds de nutrition. Nul doute que le sucre que la cellule de levure met physiologiquement en œuvre ne doive d'abord pénétrer par voie d'endosmose au travers de la paroi de la cellule, et ne soit utilisé qu'au moment où il commence à faire partie, sous une forme quelconque, des sucs intérieurs. La seule différence de cette cellule avec celles du tissu intérieur d'une betterave, est que ces dernières ont su se faire, à un certain moment de leur existence, leur provision de sucre, tandis que la cellule de levure a dû le recevoir de l'extérieur. Mais dans les deux cas, ce n'est sans doute qu'au moment où il fait partie de la masse protoplasmique que ce sucre est employé comme aliment, c'est-à-dire, brûlé en partie, pendant qu'une autre portion sert à la construction et à l'aménagement de tissus nouveaux.

Or, lorsque prenant de la levure en pleine fermentation, on la tue rapidement par un moyen quelconque, de façon à immobiliser autant que possible sa masse protoplasmique sous son état actuel, on n'y trouve par l'analyse que des quantités de sucre très faibles, et dont il faut encore attribuer une partie au liquide baignant à l'extérieur les globules, liquide qu'on ne peut pas éliminer complètement, à cause de la nécessité de conduire l'opération assez vite pour que la levure ne puisse pas épuiser sa réserve. En revanche dans cette levure jeune et active, on trouve proportionnellement plus de la masse mucilagineuse signalée par Nægeli, et moins de cellulose absolument insoluble dans les acides ou les alcalis étendus.

On est donc conduit tout naturellement à penser que dans la cellule de levure, la réserve protoplasmique se fait non sous forme de sucre, mais sous forme de cette sorte de mucilage, dont nous parlions tout à l'heure, analogue à celui qu'on rencontre dans d'autres tissus vivants, par exemple dans la betterave. Le mécanisme qui la produit est tout aussi obscur dans un cas que dans l'autre; et sans méconnaître l'intérêt qu'il y aurait à l'avoir saisi, nous avons le droit de le négliger dans cet aperçu général. Le seul fait qui nous intéresse, c'est qu'il apparaît dans la nutrition, aux dépens du sucre, de certaines cellules des végétaux supérieurs, dont la vie profonde nous apparaît, peut-être à tort, mais enfin nous apparaît comme moins mystérieuse que celle de la levure.

Si on admet cette conception, tout s'éclaire dans l'histoire de notre petit végétal. Pendant sa vie normale il se fait une réserve protoplasmique aux dépens de laquelle il vit, qu'il consomme et qu'il renouvelle régulièrement tant qu'il rencontre du sucre autour de lui. C'est un végétal ordinaire, se faisant d'une façon continue une masse alimentaire, et la consommant d'une façon continue.

La source à laquelle il puise est le sucre, au lieu d'être l'acide carbonique de l'air, car il n'a pas de chlorophylle, et ne peut créer de la matière organique. Mais il peut la transformer, l'élaborer, c'est-à-dire la digérer avant de la mettre en œuvre. La matière première de son évolution, le sucre, lui fait-il défaut, il vit aux dépens de la masse protoplasmique, qu'il est dans sa nature de s'être créée, et donne ses produits ordinaires, tissus nouveaux, alcool, acide carbonique, produits d'excrétion et de sécrétion, jusqu'au moment où cette réserve s'épuise à son tour. A partir de ce moment, l'attaque portant peut-être sur des matériaux de plus en plus résistants, la vie devient de plus en plus lente et plus difficile jusqu'à ce qu'enfin elle s'éteigne.

Telle est la synthèse à laquelle nous voulions arriver. Elle rassemble sous une formule unique et dans une explication commune tous les phénomènes de nutrition de la cellule de levure que nous avons envisagés jusqu'ici. Nous retrouverons une conception analogue dans les chapitres suivants quand nous étudierons les relations de la levure avec un autre aliment important : l'oxygène.

BIBLIOGRAPHIE

Béchamp. — Sur l'acide acétique dans la fermentation alcoolique. *Comptes rendus*, t. LVI, p. 969, 1086, 1231, et t. LVII, p. 496, 1863.

— Note sur la fermentation alcoolique. *Comptes rendus*, t. LVIII, p. 601.

— Sur l'épuisement physiologique et la vitalité de la levure de bière, *Comptes rendus*, t. LXI, p. 689.

— Sur la cause de la fermentation alcoolique par la levure de bière, et sur la formation de la leucine et de la tyrosine dans cette fermentation. *Comptes rendus*, t. LXXIV, p. 184.

— Recherches sur la théorie physiologique de la fermentation alcoolique de la levure de bière, *Comptes rendus*, t. LXXV, p. 1036.

Schutzenberger. — Faits pour servir à l'histoire de la levure de bière. *Comptes rendus*, t. LXXVIII, p. 493, 1874, et *Bulletin de la Société chimique*, t. XXI, p. 204.

Béchamp. — Nouvelles recherches sur l'épuisement physiologique de la levure de bière. *Comptes rendus*, t. LXXVIII, p. 645.

Schutzenberger. — Réponse à une réclamation de priorité de M. Béchamp. *Comptes rendus*, t. LXXVIII, p. 698.

CHAPITRE XXXVI

RAPPORTS DE L'OXYGÈNE AVEC LA LEVURE

La conclusion à laquelle nous sommes arrivés dans le chapitre précédent nous oblige à étudier, de plus près que nous n'avons pu le faire jusqu'ici, les rapports de l'oxygène avec la levure. Nous ne les avons examinés jusqu'ici, et encore superficiellement, qu'à un point de vue, le point de vue physiologique. Nous avons indiqué les relations qui lient la privation d'oxygène à l'apparition du caractère ferment. Nous avons maintenant à essayer de saisir le mécanisme qui relie entre eux ces deux phénomènes. Si nous y réussissons, nous aurons, par cela même, échafaudé une théorie de la fermentation, d'accord avec tous les faits connus jusqu'ici, les rassemblant sous une formule unique, et utile à conserver dans la science comme une synthèse, jusqu'au jour où un nouveau progrès nous permettra de la remplacer par une autre plus compréhensive, pénétrant plus avant dans l'intimité de ce phénomène mystérieux. Il est probable que cette théorie nouvelle se déduira tout entière un jour, comme un simple corollaire, de l'idée que la science se sera faite du mécanisme de la vie dans une cellule vivante. Du moins tous les progrès que nous faisons nous conduisent, comme nous avons déjà eu occasion de le montrer, à cette assimilation, à ce point d'intersection de deux voies aujourd'hui distinctes, mais entre lesquelles nous allons pouvoir établir des chemins de traverse, et même des points de contact.

Respiration de la levure. — Les études que nous allons résumer sur cet important sujet sont dues à M. Schutzenberger, et ont été faites en dosant l'oxygène par l'élégant procédé de MM. Schutzenberger et Risler, au moyen de l'hydrosulfite de soude.

De la levure fraîche en pâte abandonnée en suspension dans l'eau à la température ordinaire des fermentations, en absorbe complètement l'oxygène qu'elle remplace par de l'acide carbonique ; et ce qui prouve qu'il s'agit bien ici, non d'un simple phénomène d'oxydation, mais d'un fait vital, c'est qu'elle perd tout pouvoir lorsqu'elle a été, au préalable, chauffée à une température de 60°.

Nous savions déjà que la levure est un aérobie, et ce fait n'a pas le droit de

nous surprendre. Mais la levure peut aussi enlever l'oxygène à des substances qui le retiennent faiblement combiné.

Ainsi, quand on délaye de la levure fraîche, lavée ou non, dans du sang artériel rouge ou dans une solution d'hémoglobine saturée d'oxygène, on voit le liquide passer rapidement du rouge au bleu foncé et au noir; une simple agitation avec de l'air rend au sang sa couleur rutilante qui disparaît de nouveau, et ainsi de suite un grand nombre de fois, quand la levure est bien fraîche.

Il est évident, dans cette expérience, que les cellules de levure vivent aux dépens de l'oxygène combiné au globule sanguin, comme le font les cellules des tissus dans le corps des animaux. M. Schutzenberger a même pu simuler artificiellement les phénomènes de respiration à travers le réseau capillaire, en faisant circuler lentement du sang rouge à travers un système assez long de tubes creux, formés de baudruche mince, et immergés dans une bouillie de levure délayée dans du sérum frais, sans globules sanguins, maintenue à 35°. On voit le sang sortir noir à l'autre extrémité, tandis qu'il reste rouge lorsqu'on supprime la levure.

L'oxygène de l'hémoglobine peut être enlevé, comme on sait, par l'action du vide; il n'est donc qu'à l'état de combinaison instable, et constamment en voie de dissociation. La levure ne semble pas pouvoir enlever l'oxygène aux corps qui le retiennent plus fortement. Du moins, elle est sans action sur le carmin d'indigo, que diverses espèces de bactéries décolorent avec la plus grande facilité, comme nous l'avons vu au chapitre VIII. Nous aurons à nous souvenir bientôt de ce fait.

De ce qui précède résulte la notion, chez la levure, d'une activité respiratoire que nous pouvons définir: la quantité d'oxygène consommée dans l'unité de temps par l'unité de poids, et mesurée par le procédé de MM. Schutzemberger et Rister.

Cette activité respiratoire paraît être la même à la lumière ou dans l'obscurité, mais elle dépend de la température. Très faible au voisinage de 10°, elle s'élève lentement jusqu'à 18°, plus rapidement ensuite pour atteindre vers 40° une hauteur maxima qu'elle conserve jusqu'au voisinage de 60°, point auquel elle retombe brusquement vers zéro, par suite de la mort de la levure.

Toutefois, tout en conservant cette marche générale dans les échantillons divers de levure, elle n'a pas la même valeur pour chacun d'eux, même lorsque, pour éliminer l'influence de la quantité variable d'eau qu'ils renferment, on ramène tout à 1 gramme de levure sèche. Mais les chiffres sont peu variables. Voici, pour fixer les idées sur leur ordre de grandeur, les résultats d'une expérience sur l'influence de la température :

Températures.	Oxygène absorbé par 1 gramme de levure fraîche.	Oxygène absorbé par 1 gramme de levure sèche.
—	—	—
9°	0cc,14	0cc,56
11°	0 ,42	0 ,68
22°	1 ,2	4 ,80
33°	2 ,1	8 ,4
40°	2 ,06	8 ,2
50°	2 ,4	9 ,6
60°	0 ,0	0 ,0

On peut admettre, en moyenne, qu'à la température ordinaire des fermentations, entre 20 et 25°, 1 gramme de levure, pesée à l'état sec, et abandonnée dans l'eau pure, transforme par heure en acide carbonique environ 5 centimètres cubes d'oxygène, pesant 7$^{mill.}$,5. Ce chiffre peut s'élever jusqu'à 10 milligrammes, mais ne le dépasse pas.

L'activité respiratoire, telle que nous venons de la définir et de la mesurer, est naturellement indépendante de la masse de levure entrant en action ; elle paraît aussi ne pas dépendre de la quantité d'oxygène présente dans le liquide où l'on a délayé la levure. Il y a à peu près les mêmes quantités d'oxygène absorbées dans du sang renfermant 200 à 230 centimètres cubes d'oxygène par litre, dans de l'eau saturée d'oxygène, n'en renfermant de 15 à 18 centimètres cubes par litre, et dans l'eau ordinaire qui ne renferme que 7 à 8 centimètres cubes. Dans cette dernière, l'activité respiratoire reste constante, et, par suite, la quantité d'oxygène présente diminue proportionnellement au temps, jusqu'au moment où il n'y en a plus qu'environ 0^{cc},5 par litre. A ce moment, la fourniture n'est plus égale à la dépense possible, et l'activité respiratoire baisse brusquement.

Voilà un cas où l'activité respiratoire diminue faute d'oxygène, en voici un où elle diminue faute de levure. En délayant, dans 1 litre d'eau aérée, de 2 à 3 grammes de levure fraîche, la disparition de l'oxygène reste régulière jusqu'à la fin. Si on n'en délaye que 0^{cc},5 à 1 gramme, l'absorption du gaz se fait d'abord proportionnellement au temps, puis diminue assez rapidement et finit par devenir à peu près nulle, longtemps avant que tout l'oxygène ait disparu de la liqueur. Il est clair que c'est alors le principe oxydable qui manque, parce que la levure n'en apporte avec elle qu'une quantité limitée.

De quelle nature est ce principe oxydable? L'expérience montre qu'il est surtout contenu dans les matières que le lavage à l'eau froide enlève à la levure. Ainsi lavée, la levure montre une activité respiratoire plus faible qu'à l'état frais, et qui n'augmente que peu à peu au fur et à mesure que la cellule se crée, par le mécanisme que nous avons appris à connaître au chapitre précédent, de nouveaux matériaux solubles. Au contraire, la même levure lavée, délayée dans de l'eau aérée où l'on ajoute son eau de lavage, recouvre à peu près son activité respiratoire initiale, lors même que l'eau de lavage a été, au préalable, portée à l'ébullition.

Il ne faudrait pas tirer de là la conclusion que de la levure abandonnée longtemps à elle-même, et soumise à l'autophagie, a, d'un bout à l'autre du phénomène, la même activité respiratoire. Nous savons, en effet, que ce procès vital est un procès d'inanition qui l'affaiblit et se termine par sa mort. En d'autres termes, il ne suffit pas, pour qu'il y ait respiration active, qu'il y ait en présence des doses suffisantes d'oxygène et de substance oxydable ; il faut encore que la cellule soit vivante et active, car c'est elle qui est la cause déterminante du phénomène, celle sans laquelle l'oxygène et la matière oxydable resteraient sans action. Le fait que cette activité vitale, traduite par la dépense d'oxygène, est plus faible dans la levure inanitiée, est tout à fait d'accord avec le caractère que, dans le chapitre précédent, nous avons donné à ce phénomène. Nous allons voir qu'au fond, tous les faits que nous venons de constater se rapportent, ainsi

qu'il était facile de le prévoir, à de la levure dans cet état d'inanition, et que toutes les variations que nous avons constatées sont attribuables à la même cause.

Respiration de la levure en fermentation. — Nous savons déjà que, mise dans un liquide sucré exposé à l'air, la levure absorbe l'oxygène en se reproduisant abondamment. Mais il nous faut maintenant comparer, autant qu'il est possible de le faire, l'activité respiratoire qu'elle a dans ces conditions avec celle qu'elle manifestait dans les essais de tout à l'heure.

Adressons-nous d'abord pour cela à la levure très aérobie que nous avons étudiée au chapitre XX sous le nom de mycolevure, et revenons à l'expérience de ce chapitre où nous avons vu de la mycolevure se former aux dépens d'une trace impondérable de semence, en produisant à peu près, en acide carbonique, une fois et demie le poids de levure final. Comme il n'y a pas eu, dans cette expérience, d'alcool produit en quantité sensible, tout cet acide carbonique provient de l'action directe de l'oxygène de l'air. D'après son poids, le poids de l'oxygène qui l'a formé était donc égal à peu près égal au poids de la levure à la fin de l'opération, qui n'a pas duré trois jours. En admettant qu'elle se soit faite entièrement avec le poids final de levure, ce qui est certainement exagéré, on trouve que chaque gramme de mycolevure sèche a dû absorber par heure, au minimum, 15 milligrammes d'oxygène. C'est un chiffre supérieur à ceux que nous trouvions tout à l'heure, et il s'agit là d'un liquide purement minéral et de mauvaises conditions d'existence.

Mettons-nous dans de meilleures conditions en introduisant un jus sucré, additionné d'une trace de levure, dans un matras de verre, à fond très plat, que nous fermerons à la lampe, et dont nous analyserons l'air après quelques heures de séjour à l'étuve. Je trouve dans une expérience de M. Pasteur, faite avec de l'eau de levure sucrée, que, pour la production de $0^{gr},035$ de levure, il a été consommé, en quinze heures, à 25°, $14^{cc},5$ de gaz oxygène ; cela donnerait 414 centimètres cubes ou 625 milligrammes d'oxygène pour 1 gramme de levure sèche, et encore ce nombre est-il probablement trop faible ; car il est impossible que, dans les conditions de l'expérience, il n'y ait pas quelques cellules de levure formées à l'abri de l'air, par exemple, celles qui se trouvaient à la partie inférieure du dépôt.

Acceptons pourtant ce chiffre, et rapportons-le d'abord au poids de levure final, ce qui, comme tout à l'heure, nous conduira à des nombres minimum ; nous voyons que 1 gramme de levure, en une heure, a consommé plus de 40 milligrammes, soit $\frac{1}{25}$ de son poids d'oxygène.

C'est un nombre plus élevé qu'aucun des précédents. Nous allons être conduits à l'élever encore en analysant de plus près le phénomène. Imaginons pour cela que nous connaissions la loi de multiplication de la levure dans les conditions dans lesquelles nous l'avons placée, c'est-à-dire en présence d'une quantité d'oxygène assez grande et assez bien renouvelée pour que les cellules en aient toujours trouvé à leur disposition la quantité nécessaire, et n'aient pas eu à se disputer les unes aux autres.

Connaissant la loi de multiplication d'une cellule unique, il est facile de la représenter par une courbe dans laquelle les abscisses seraient les temps écoulés depuis l'ensemencement, et dont les ordonnées seraient les nombres de cellules ayant pour origine la cellule initiale.

Ces ordonnées seraient à leur tour proportionnelles à la quantité d'oxygène consommée dans chaque unité de temps, d'où il résulte que la quantité totale d'oxygène consommée pendant la durée de l'expérience serait représentée proportionnellement par l'aire de la courbe comprise entre l'axe des temps et l'ordonnée finale. En divisant maintenant cette quantité totale par la durée de l'expérience, on obtient une évaluation approximative de l'activité respiratoire, et du poids moyen des cellules entrées en action.

Expériences de M. Hansen. — Nous trouvons précisément, dans un travail de M. Hansen, des nombres représentant la loi de multiplication d'une cellule unique dans un liquide où on faisait passer un courant d'air continu. Nous choisissons une expérience où la multiplication des cellules n'a pas été trop rapide, parce que nous verrons bientôt que, lorsqu'elle l'est trop, il n'y a pas de courant d'air suffisant pour donner aux globules tout l'oxygène qui leur serait nécessaire.

Les évaluations de M. Hansen ont été faites à l'aide des procédés employés pour la numération des globules du sang, en opérant sur un volume toujours le même du liquide fermentant. Les chiffres ci-dessous donnent les nombres de cellules existant dans ce volume de liquide à diverses époques. Les deux dernières colonnes indiquent ce que deviendraient ces chiffres s'il n'y avait eu à l'origine qu'une seule cellule ensemencée, et les durées de la multiplication :

	Chiffre des cellules.	Nombres proportionnels.	Temps de l'expérience.
	—	—	—
23 mai.	41	1	0
24 —	387	9	1
25 —	1274	32	2

Si on tient compte de ce que, à la fin de l'expérience, le liquide était déjà chargé de levure et que la multiplication a dû en être un peu gênée, on voit que les quantités de levure formées sont à peu près proportionnelles au carré des temps, ce qui donne, en appelant P le poids final de levure, T la durée de l'expérience, p le poids à un moment quelconque t, l'unité de poids étant le poids de la semence, l'expression

$$p = \mathrm{P}\,\frac{t^2}{\mathrm{T}^2}$$

comme représentant approximativement la loi de multiplication de la levure dans les conditions ci-dessus indiquées.

Dès lors l'aire de la courbe comprise entre l'origine et l'ordonnée T est

$$\mathrm{A} = \frac{\mathrm{PT}}{3}.$$

Ce qui revient à dire que tout s'est passé comme si, pendant la durée de l'expérience, il y avait eu, à respirer, une quantité $\frac{P}{3}$ de levure, soit le tiers du poids final.

L'activité respiratoire de la levure, dans notre évaluation de tout à l'heure, n'était donc guère que le tiers de ce qu'elle aurait dû être, et nous voici amenés à conclure que 1 gramme de levure, respirant en pleine liberté, dans un liquide sucré et du reste favorable à son développement, peut consommer par heure environ 120 milligrammes d'oxygène, soit environ le $\frac{1}{8}$ de son poids. Notre chiffre est certainement approximatif, mais il est probable qu'il pèche plutôt par défaut que par excès. En tous cas, il est quinze fois plus grand que celui que nous avions pu conclure des expériences de M. Schutzenberger.

Cette différence n'a pas de quoi nous surprendre. De la levure en pleine activité et en pleine reproduction dans un liquide sucré et aéré ne peut se comporter comme de la levure inanitiée dans de l'eau pure. Ce qu'il faut surtout remarquer, et ce qui amène à réfléchir, c'est l'énormité du chiffre, qui est de beaucoup supérieur à celui qui représente l'activité respiratoire des divers tissus animaux ou végétaux. Il est même notablement plus grand que celui des globules sanguins. Les expériences de MM. Voit et Pettenkofer ont montré qu'un homme de vingt-huit ans, du poids de 60 kilogrammes, soumis à un régime mixte et à un travail modéré, consommait en vingt-quatre heures 709 grammes d'oxygène. En admettant qu'il y ait eu dans le sang de cet homme environ 1 kilogramme de globules sanguins pesés à l'état sec, ce qui ne s'éloigne pas beaucoup de la vérité, on trouve que ces globules consomment en moyenne par heure environ 30 grammes d'oxygène, soit seulement $\frac{1}{33}$ de leur poids. C'est à peu près quatre fois moins que des globules de levure.

Ce n'est pas dans un intérêt purement théorique que nous venons d'établir, par des chiffres précis, la puissante activité respiratoire des globules de levure lorsqu'ils se reproduisent : nous avons à en tirer des conséquences importantes. Mais comme le sujet est délicat, nous y pénétrerons pas à pas, en consultant à chaque instant l'expérience pour savoir si nous ne nous égarons pas.

Aération du liquide fermentescible. — Nous avons examiné avec soin, au chapitre XX, l'influence qu'exercent, sur ce que nous avons appelé le pouvoir ferment de la levure, l'aération du liquide, celle de la levure et même celle de la semence. Le moment est venu d'étudier l'influence qu'exerce l'aération de ces trois éléments sur la multiplication des cellules. Cette question, bien que liée à la première par des liens que nous aurons à préciser, en est pourtant indépendante, et même nous savons déjà que le pouvoir ferment de la levure varie en sens inverse de la puissance de prolifération. Examinons de près ce qui se passe pour cette dernière.

La prolifération rapide de levure que nous venons de constater tout à l'heure, et sa puissance d'absorption pour l'oxygène, sont deux phénomènes connexes et qui exercent l'un sur l'autre des répercussions réciproques. De la levure plus aérée

se multiplie davantage, et en absorbe d'autant plus d'oxygène. Quel que soit le lien entre les deux phénomènes, nous pouvons conclure que de deux liquides identiques, l'un abandonné à lui-même, l'autre soumis à un courant d'air, c'est dans ce dernier que la reproduction des globules sera la plus énergique. Voyons si l'expérience est d'accord avec cette induction.

Les nombres ci-dessous, empruntés au travail cité plus haut, de M. Hansen, et obtenus par la méthode que nous avons indiquée, donnent une idée de la rapidité de reproduction des globules de levure dans une liqueur aérée et non aérée.

	Dates.	Nombre de cellules.		Différence en faveur de la liqueur aérée
		Liqueur non aérée.	Liqueur aérée.	
	—	—	—	—
I.	23 mai.	41	41	»
	24 —	169	387	208
	25 —	375	1 274	809
II.	28 mai.	55	55	«
	29 —	279	800	621
	30 —	405	1 498	1 094

Dans un liquide en repos, la multiplication est donc beaucoup plus lente que dans un liquide soumis à un courant d'air. La liqueur non aérée de M. Hansen renfermait pourtant de l'air, ainsi qu'en témoigne la prolifération assez active de l'origine; mais la multiplication est devenue ensuite plus lente, et la différence avec la liqueur non aérée a été en s'exagérant dans les deux cas.

Partant de là, on peut prévoir que lorsqu'on déposera, comme on le fait d'ordinaire pour mettre en train une fermentation alcoolique, de la levure dans un liquide sucré, il y aura à l'origine, aux dépens de l'air resté dans le flacon ou dissous dans le liquide, une prolifération active qui ira en se ralentissant peu à peu. La durée de cette prolifération rapide sera plus grande à basse température qu'à température élevée; par contre, son activité sera moindre, de sorte qu'au bout de quelques jours l'équilibre sera à peu près rétabli, et que la proportion de levure formée pour une même quantité de liquide nourricier, et pour des circonstances extérieures identiques, sauf la température, sera à peu près la même dans tous les cas.

C'est une conclusion que M. Pedersen à pu déduire de ses expériences sans en avoir, à ce qu'il semble, bien compris la cause. En évaluant par les procédés ordinaires de numération de globules du sang, l'accroissement du nombre des cellules de levure basse par unité de temps à diverses températures, il a trouvé les nombres suivants :

Température.	Augmentation du nombre des cellules.	
	Le premier jour.	Le second jour.
—	—	—
4°	8	19
14°	24	52
23°	70	20

Le maximum, à 23°, est atteint le premier jour; le second, à 13°, mais, dans les

deux cas, au bout de huit jours, les différences sont à peu près effacées, et le nombre des cellules est devenu vingt fois plus grand environ que celui de la semence.

Nous voyons, en d'autres termes, et dans une fermentation unique, se manifester, dans un temps plus ou moins court, tous les phénomènes que nous avons analysés de près au chapitre XX; au commencement, reproduction active de la levure, combustion du sucre, et pouvoir ferment très faible ou même nul. Au fur et à mesure que l'oxygène disparaît de l'air du flacon ou de l'intérieur du liquide, la prolifération diminue et devient très faible, et la fermentation régulière commence à l'aide des cellules de la semence, de celles qui se sont formées pendant les premières heures, et de celles qui continuent à se former sans cesse pendant la fermentation, sans qu'il soit possible de trouver de différences quelconques à établir entre la nature, le mode d'existence et de prolifération de ces diverses catégories de cellules.

Une dernière considération trouve naturellement sa place ici. Les besoins d'oxygène sont tellement grands chez la levure, que celui qu'on lui laisse dans la pratique ordinaire de la mise en train des fermentations sera très rapidement absorbé, sans qu'il faille pour cela un poids de levure bien considérable. Pour peu que la température soit favorable, la fermentation s'établira, l'acide carbonique chassera les dernières traces d'oxygène, il se formera à la surface du liquide une couche de gaz lourd au travers duquel la pénétration de l'oxygène sera difficile, et en résumé, lors même qu'une fermentation est mise en train dans un liquide aéré, et dans un flacon où on a laissé de l'air, elle ne met pas longtemps à s'établir et à se poursuivre dans un milieu à peu près débarrassé d'oxygène.

Aération de la levure. — Ce milieu que la levure se crée est-il très favorable à son développement. Nous savons déjà que non, et ce que nous venons d'apprendre nous permet de penser que nous rendrions la multiplication plus active, et, par un effet réflexe, la fermentation plus rapide, en aérant le liquide pendant la fermentation.

Cette question de l'aération des mouts a été très étudiée, et résolue dans des sens très divers. Qu'une aération bien faite s'accompagne d'une multiplication plus abondante des cellules, c'est ce dont témoignent hautement les résultats de M. Pasteur, les évaluations numériques de M. Hansen, les pratiques industrielles de la production de la levure pressée, dont nous aurons à parler bientôt. Il n'en est que plus surprenant de voir que cette influence a été niée, et même affirmée en sens contraire. Une revue, même rapide, des travaux nombreux et contradictoires que la science possède sur ce sujet n'aurait aucun intérêt; il sera plus court de dire à quelles causes d'erreur sont venus se heurter la plupart de ceux qui ont conclu à l'influence nulle ou dépressive de l'air sur la marche de la fermentation.

Nous avons d'abord le droit de rejeter en bloc tous ceux, et ils sont nombreux, où l'expérience a porté sur un liquide artificiel, sucré par exemple, et additionné de sels minéraux peu propres à la reproduction des globules de levure. Il est clair qu'il ne sert à rien de fournir en abondance, en excès même, un

aliment, l'oxygène, si les autres aliments sont rares ou font défaut, ou s'ils sont difficilement assimilables. Il y a plus. Dans ces liquides inféconds, où la fermentation est toujours très lente, il reste toujours de l'oxygène, et en en amenant de nouveau, on change à peine les conditions de prolifération de la levure.

Restent à envisager seulement les expériences faites sur les liquides très nutritifs, le mout de raisin, le guillage de bière. La cause la plus fréquente d'erreurs avec ces derniers a été l'insuffisance de l'aération. Une insufflation d'air pendant quelques minutes, une ou deux fois par jour, ne peut beaucoup changer les conditions de milieu. La levure, il est vrai, absorbe rapidement l'oxygène qu'on lui offre, nous allons le voir bientôt, mais elle ne peut en absorber, d'après les expériences de M. Schutzemberger qu'une quantité limitée; et tout celui qu'on a introduit en excès est bientôt entraîné au dehors par le dégagement d'acide carbonique, très abondant dans ces liquides appropriés.

Je relèverai enfin une dernière cause d'erreur dans le choix des moyens adoptés pour apprécier l'efficacité de l'aération. Le seul critérium acceptable est l'augmentation du poids de levure et la diminution du temps total de la disparition du sucre. Les variations dans les proportions d'alcool, auxquelles on s'est souvent adressé, n'ont rien à faire avec la solution de la question. Elles peuvent être nulles entre deux fermentations, l'une ayant duré quinze jours, et l'autre huit seulement par suite d'une aération plus parfaite. Elles peuvent être de sens inverse à celles qu'on aurait le droit de supposer dans deux mouts de vin ou de bière dont l'un a pu fermenter plus complètement que l'autre, parce qu'il aura été en contact à la fin avec une levure plus jeune et mieux aérée.

Si j'ajoute enfin qu'il y a de nombreux mémoires où l'auteur semble ne s'être pas préoccupé de la différence notable de température qu'amène dans un liquide l'aération au contact de l'air ou par insufflation, et n'en a pas moins bravement conclu à la nullité d'une action qu'il avait laissée emmêlée dans une foule d'autres, je crois qu'il me sera permis de tirer de l'étude consciencieuse que j'ai faite de tous ces mémoires la conclusion qu'il n'en est aucun qui infirme les faits précis que j'ai eu l'occasion d'exposer plus haut. Nous verrons du reste bientôt combien de pratiques industrielles sont liées à l'activité reproductrice que l'oxygène imprime à la levure.

Voici d'ailleurs, pour terminer ce qui est relatif à ce sujet, une observation de M. Pasteur, restée, je crois, inédite, et tout à fait probante. Lorsqu'on installe une fermentation dans les conditions relatées p. 258 de ce livre, c'est-à-dire lorsqu'on introduit dans un liquide sucré, privé d'air, une levure déjà vieillie, nous avons dit que la fermentation devenait interminable. Le dégagement d'acide carbonique se fait par bulles de plus en plus petites et de plus en plus rares, et finit par cesser complètement. Si alors, en ouvrant le robinet qui ferme le col du ballon de la fig. 47, on fait arriver au haut du tube une bulle d'air imperceptible, grosse comme un grain de millet, l'oxygène qu'elle contient se dissout rapidement et se diffuse dans le liquide. Moins d'une heure après, dans ce liquide saturé d'acide carbonique, le dégagement de gaz a repris de l'activité et dure pendant quelques jours, puis s'arrête de nouveau pour être réveillé par une nouvelle bulle aussi petite que la première. Rien ne témoigne mieux que cette expérience

à la fois de l'influence de l'air sur la levure, et des petites quantités d'oxygène qui suffisent pour cela.

Aération de la semence. — Il faut dire pourtant que, dans cette expérience, le mécanisme de l'action incontestable qu'on observe est plus délicat et plus profond que dans toutes nos expériences antérieures. Il faut le rapprocher, non de l'impulsion que l'air donne à la multiplication des globules de levure, mais de cette influence plus intime, que nous avons étudiée au chapitre XX, et qui fait que la levure, plongée dans un liquide tout à fait désaéré, ne peut continuer à y vivre que si elle a eu récemment le contact de l'air, ou bien provient, par un nombre de générations toujours très petit, d'une cellule qui a eu ce contact. L'idée de réserve alimentaire ou protoplasmique, à laquelle les chapitres précédents nous ont habitués, peut légitimement et de nouveau intervenir ici, et nous pouvons dire que toute levure périt lorsqu'elle n'a pas pris elle-même à l'air, ou reçu en héritage de ses ascendants directs, une dose minimum d'oxygène libre ou faiblement combiné, que l'expérience montre être très petite, mais ne pouvoir être totalement absente.

Cette idée de réserve protoplasmique d'oxygène est d'accord avec les faits que nous avons signalés en détail, au chapitre XX, sur l'influence que pouvait avoir, sur la marche d'une fermentation, la durée plus ou moins longue de la vie de la semence à l'abri du gaz oxygène; elle est d'accord aussi avec l'aspect que la levure présente au microscope suivant qu'elle a eu récemment ou depuis longtemps le contact de l'air. Quelques-unes des planches de ce livre, et quelques-uns des faits qui y sont énoncés nous ont familiarisés avec ces différences d'aspect. Dans les globules qui ont eu le contact de l'air, le protoplasma est fluide, d'aspect doux, rempli de vacuoles plus transparentes. Dans le globule vieilli, il est condensé en granulations plus réfringentes, et ne remplit pas l'enveloppe de cellulose, de sorte qu'entre le contenu et le contenant existe une ligne assez large qui simule une double enveloppe.

A ces différences d'aspect correspondent à leur tour des différences dans la puissance et le mode de développement. Pour en donner une idée, je ne saurais mieux faire que d'emprunter à M. Pasteur une remarquable page où se trouve tracée, à propos d'une expérience que nous n'avons pas encore citée, une synthèse de tous ces phénomènes.

« Ensemençons, dit M. Pasteur, un liquide fermentescible ; la levure se développe, et la fermentation se manifeste. Celle-ci dure plusieurs jours, après quoi elle s'arrête. Or je suppose qu'à partir du jour où la fermentation s'est accusée par la production d'un peu de mousse qui, peu à peu, fait blanchir la surface du liquide, on prélève, toutes les vingt-quatre heures ou à plus longs intervalles, une trace de levure déposée au fond du vase, pour la faire servir de semence à de nouvelles fermentations, toutes placées dans les mêmes conditions de température, de nature et de volume de liquide, et cela pendant un temps prolongé, même après que la fermentation mère sera achevée. Il est facile de reconnaître que les premiers signes d'action dans les fermentations filles sont d'autant plus retardés que le jour de prise de la semence est plus éloigné du début de la fermentation mère. En d'autres termes, le temps nécessaire à la

germination de la semence et à la production du poids de levure, qui provoque les premières manifestations de la fermentation, varie avec l'état de la semence, et est d'autant plus long que les globules de cette semence sont plus éloignés de l'époque de leur formation. Il faut autant que possible, dans ces expériences, que les prises successives de levure soient d'égal poids ou d'égal volume, parce que les fermentations se déclarent d'autant plus vite, toutes choses égales, qu'on emploie une plus grande quantité de levure pour semence.

« Compare-t-on au microscope l'état des prises successives de la levure, on reconnaît facilement que les cellules changent progressivement de structure. La première prise, faite tout au début de la fermentation mère, montre des cellules en général un peu plus volumineuses qu'elles ne seront plus tard, d'une tendreté remarquable. Leurs enveloppes sont d'une minceur extrême, leur protoplasma d'une consistance et d'une mollesse voisines de la fluidité, les granulations sous forme de points à peine visibles. Bientôt les contours des cellules deviennent plus fermes, preuve d'un épaississement de leurs enveloppes ; leur protoplasma s'épaissit également, les granulations s'accusent. Les cellules d'un même organe, chez l'enfant et chez le vieillard, ne doivent pas différer plus que les cellules dont nous parlons, prises dans leurs états extrêmes. Ces changements progressifs dans les cellules, après qu'elles ont acquis leur forme et leur volume, démontrent l'existence d'un travail chimique d'une intensité remarquable, pendant lequel leur poids s'accroît, quoique leur volume ne change pas sensiblement, fait que j'ai appelé souvent : « la vie continuée des globules déjà formés. » C'est ce qu'on pourrait qualifier de travail d'avancement en âge des cellules, à peu près comme on voit les êtres adultes continuer de vivre longtemps, même après qu'ils sont devenus impuissants à se reproduire et que leur volume ne change plus.

« Cela posé, on constate, je le répète, que, pour se multiplier dans un milieu fermentescible, hors de toute présence de gaz oxygène, les cellules de levure doivent être extrêmement jeunes, pleines de vie et de santé, encore sous l'influence de l'activité vitale qu'elles doivent à l'oxygène libre, qui a servi à les former, que peut-être elles ont emmagasiné pour un temps. Plus vieilles, elles ont beaucoup de peine à se reproduire sans air et elles vieillissent de plus en plus ; si elles se multiplient, c'est sous une forme bizarre et monstrueuse. Plus vieilles encore, elles restent absolument inertes dans un milieu dépourvu d'oxygène libre. Ce n'est pas qu'elles soient mortes ; en général, elles peuvent se rajeunir merveilleusement bien dans ce même liquide, si on les y sème après l'avoir aéré. Je ne serais pas surpris que, dans l'imagination d'un lecteur attentif, surgissent en ce moment certaines vues préconçues au sujet des causes et de l'explication de ces grands mystères de la vie des êtres, que notre ignorance cache sous les expressions de jeunesse et de vieillesse ; mais je n'ose m'y arrêter. »

Nous avons si souvent, dans le courant de ce livre, insisté sur les ressemblances profondes entre la vie des cellules de ferments, et de celles qui entrent dans la construction des animaux et des végétaux supérieurs, que ces vues hardies de M. Pasteur doivent commencer à nous paraître naturelles. Ce qu'elles ont pourtant de nouveau, c'est qu'elles portent sur un terrain où l'assimilation est plus imprévue que sur un autre. Si la levure diffère, en effet, des autres

cellules, c'est précisément en ce qu'elle n'a pas besoin d'oxygène libre, et que lorsque ce gaz lui manque, elle n'interrompt pas sa vie et peut en inaugurer une nouvelle toute différente en apparence ; mais cette dissemblance profonde ne nous a pas empêché, pas plus ici que dans le chapitre précédent, à propos des éléments solides, de mettre en évidence des ressemblances caractéristiques. Comme d'autres végétaux, la levure peut respirer l'oxygène libre pendant qu'elle élabore de nouveaux tissus. Même lorsqu'elle est surtout ferment, elle a besoin d'une petite quantité de ce gaz. Elle a la propriété, comme nous le verrons au chapitre XXXIX, de pouvoir en faire provision dans ces tissus, avant de commencer à bourgeonner ou de manifester aucun phénomène de prolifération. Elle s'en fait donc une réserve qu'elle consomme parcimonieusement lorsqu'elle n'a pas le moyen de la renouveler, mais dont elle a un besoin absolu, et dont elle traduit la disparition par une mort apparente d'abord, réelle ensuite. En un mot, tout en pouvant vivre dans l'acide carbonique, elle n'en craint pas moins l'asphyxie.

BIBLIOGRAPHIE

SCHUTZEMBERGER. — *Les fermentations*. 1 vol. de la *Bibl. scient. internat.* G. Baillère, 1875.

— *Revue scientifique*, 1879, p. 909.

PASTEUR. — *Études sur la bière*. Paris, Gauthier-Villars, 1876.

HANSEN. — Sur l'influence de l'introduction de l'air atmosphérique pendant la fermentation. *Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet*, Copenhague, 1880.

PEDERSEN. — Recherches sur quelques facteurs qui ont de l'influence sur la propagation de la levure basse du *Saccharomyces cerevisiæ*. *Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet*, Copenhague, 1880.

— Influence de l'introduction de l'air atmosphérique pendant la fermentation. *Ibid.*

CHAPITRE XXXVII

THÉORIE DE LA FERMENTATION ALCOOLIQUE

Les faits exposés dans le chapitre précédent, joints à ceux qui sont consignés dans le chapitre XX, peuvent se résumer en quelques mots :

La levure, librement et largement exposée au contact de l'air dans un moût sucré, bourgeonne et se reproduit avec activité. Elle vit alors à la manière des cellules des animaux et des végétaux supérieurs. Avec elle, la formation de tissus nouveaux s'accompagne encore nécessairement de la destruction d'une certaine quantité de matière organique qu'elle brûle à l'aide de l'oxygène qu'elle puise dans l'air, et pour lequel elle manifeste une avidité supérieure à celle de tout autre cellule vivante. La seule différence apparente est qu'avec elle, la matière organique, le sucre, est prise à l'extérieur, dans le liquide qui la baigne, tandis que dans les végétaux, dans la feuille de cactus qui pousse, ou la betterave qui fleurit, la matière organique vient des sucs cellulaires; mais cette différence n'est pas essentielle, et nous l'avons déjà vu s'effacer. Ce qui est identique en revanche, c'est le mode de respiration, car nous connaissons certaines espèces de levures qui, dans ces conditions, ne donnent pas d'alcool, et transforment en acide carbonique tout le sucre qu'elles n'utilisent pas pour la production de leurs tissus.

Si, à de la levure placée dans ces conditions, on mesure l'air disponible, on voit, à mesure que l'oxygène devient rare, diminuer à la fois la puissance de prolifération et la quantité d'acide carbonique produite aux dépens d'une certaine quantité de sucre. En même temps apparaît, en plus ou moins grande abondance, un élément nouveau, l'alcool, rare ou même absent dans les conditions précédentes d'existence, et dont la proportion, pour une quantité déterminée de sucre, augmente d'autant plus que l'on a davantage ménagé à la levure le contact de l'air libre ou dissous.

Cette proportion d'alcool tend rapidement, à raison même de la rapidité avec laquelle est absorbé l'oxygène, et de la facilité avec laquelle la levure se crée une existence anaérobie, vers une limite maximum qui se trouve atteinte précisément lorsque, par un dispositif convenable, on a complètement désaéré le liquide d'ensemencement. La reproduction est alors lente, pénible et faible, juste au moment où aucune portion de l'acide carbonique produit ne provient

d'une combustion directe. Nous avons même vu que la levure dans ces conditions avait besoin, pour bourgeonner et agir, d'avoir subi le contact de l'air par elle-même ou par ses ascendants immédiats; et il pourrait, à raison de ce fait, rester quelques doutes sur la possibilité de son développement en l'absence complète d'oxygène, si on ne connaissait des êtres tout pareils pouvant vivre et se développer tout à fait en dehors du contact de ce gaz. Nous en étudierons bientôt un sous le nom de *ferment butyrique;* mais nous avons évidemment le droit d'anticiper sur cette notion. Au point de vue doctrinal et théorique auquel nous voulons nous placer, peu importe que ce soient les cellules de levure ou celles du ferment butyrique qui puissent naître et vivre en dehors de l'oxygène libre, pourvu qu'il y en ait de telles. Celles de la levure se rapprochent évidemment beaucoup de ce type, ce qui suffit pour assurer la continuité et la solidité de notre raisonnement.

Ce passage de la vie aérobie, où la cellule est presque un pur agent de combustion et se multiplie avec activité, à la vie anaérobie pendant laquelle elle est ferment et se reproduit avec lenteur, s'accomplit dans un vase à fermentation par des transitions insensibles, sans que rien dans la forme, l'aspect, le mode de prolifération des globules, avertisse du changement survenu dans leur mode d'existence, et de la suppression du seul élément qui, présent et abondant à l'origine, soit devenu rare ou absent à la fin, l'oxygène.

Cela posé, la question que nous avons à nous poser avec M. Pasteur est la suivante : Faut-il admettre que la levure, si avide d'oxygène qu'elle l'enlève à l'air atmosphérique avec une grande activité, n'en a plus besoin quand on l'en prive, alors que dans le liquide fermentescible, il y a une matière, le sucre, qui peut le lui présenter à profusion, non à l'état libre, il est vrai, mais à l'état combiné. Là est tout le mystère de la fermentation; car si l'on répond à cette question en disant : « Puisque la levure assimile le gaz oxygène avec énergie lorsqu'il est libre, cela prouve qu'elle en a besoin pour vivre, et elle doit conséquemment en prendre à la matière fermentescible quand on lui refuse ce gaz à l'état de liberté, » aussitôt la levure nous apparaît comme un agent de décomposition du sucre en vertu de son avidité pour l'oxygène, c'est-à-dire, nous le répétons, pour le seul aliment dont la disparition provoque chez elle l'apparition du caractère ferment.

Notons tout de suite que cette conclusion ne s'applique pas au seul globule de levure. Nous connaissons un grand nombre d'espèces vivantes, appartenant au monde des infiniment petits et à celui des êtres supérieurs, qui obéissent à un mécanisme analogue, et deviennent ferments alcooliques lorsque, vivant au contact d'une solution sucrée, l'oxygène vient à être rare ou à leur manquer. Nous en trouverons dans la suite de ce livre une foule d'autres exemples. En étudiant les ferments des matières albuminoïdes, nous rencontrerons des êtres dont nous pourrons encore faire à volonté soit de purs agents de combustion, soit des ferments énergiques, et partout l'apparition du caractère ferment nous apparaîtra comme liée à la vie en dehors de l'oxygène libre.

« En résumé, disait M. Pasteur en 1861, à côté de tous les êtres connus jusqu'à ce jour, et qui sans exception (au moins on le croit) ne peuvent respirer et se nourrir qu'en assimilant du gaz oxygène libre, il y aurait une classe

d'êtres dont la respiration serait assez active pour qu'ils puissent vivre hors de l'influence de l'air en s'emparant de l'oxygène de certaines combinaisons, d'où résulterait pour celles-ci une décomposition lente et progressive. Cette dernière classe d'êtres organisés serait constituée par les ferments, de tout point semblables aux êtres de la première classe, vivant comme eux, assimilant à leur manière le carbone, l'azote et les phosphates, et ayant, comme eux, besoin d'oxygène, mais différant d'eux, en ce qu'ils pourraient, à défaut de gaz oxygène libre, respirer avec du gaz oxygène emprunté à des combinaisons peu stables. »

Telle est la conception à laquelle M. Pasteur s'était arrêté dès ses premiers travaux, et qui depuis s'est à peine modifiée. On lui a reproché qu'elle n'expliquait rien, et rattachait la fermentation à un mécanisme insaisissable, puisque la transformation du sucre en alcool et en acide carbonique, d'après l'équation connue, ne laissait aucune place à la formation d'oxygène libre. Mais nous savons d'un autre côté que cette transformation n'est pas la seule qui s'accomplisse, et nous avons précisément trouvé, théoriquement, il est vrai, dans la transformation du sucre en acide succinique et en glycérine une source d'oxygène libre. Qu'importe d'ailleurs que nous ne puissions pas assigner d'une façon précise le mécanisme chimique en vertu duquel la levure emprunte au sucre de l'oxygène, en transformant le reste en produits divers? Ce progrès à faire n'enlève rien de sa valeur au progrès réalisé. La science se compose d'une série de réponses provisoires à des questions de plus en plus subtiles, et tout ce que nous avons à nous demander, c'est si la fermentation est liée à la vie sans air, en laissant à l'avenir le soin de nous dire comment se fait la liaison.

Or, sur cette question, les faits que nous avons exposés ne laissent aucun doute. Mais nous pouvons pousser les choses plus loin, tirer de la notion que nous venons d'établir ses conséquences légitimes, que nous chercherons à vérifier par l'expérience. Cet examen de la question sous une autre face contribuera à éclaircir certains points que nous avons dû laisser jusqu'ici dans l'ombre, et qui sont souvent restés confus dans les écrits publiés sur ce sujet.

Rôle de l'oxygène. — Examinons de près pour cela le mode d'intervention de l'oxygène dans les phénomènes que nous étudions. Prenons d'abord le cas où une trace de levure est ensemencée dans un liquide sucré exposé au libre contact de l'air. Quand l'opération est terminée, nous trouvons de l'oxygène disparu, du sucre brûlé et de la levure produite. Celle-ci renferme de l'oxygène. Lui vient-il de celui de l'air? Rien ne permet de le décider. Elle peut l'avoir emprunté au sucre. Elle en contient moins que lui, et à peu près autant que l'alcool. Elle l'emprunte nécessairement au sucre dans une fermentation faite à l'abri de l'air. Il est naturel de lui donner dans les deux cas la même origine, l'oxygène du sucre lui-même. Cette désoxydation du sucre résulte-t-elle d'une combustion intérieure, comme celle qui caractérise la fermentation alcoolique et donne de l'alcool, ou d'une déshydratation qui augmente la proportion de carbone? C'est ce qu'aucun fait connu ne permet encore de décider.

Mais quel que soit le mécanisme du phénomène, il est bien certain que l'oxy-

gène de l'air n'y intervient guère directement. Nous pouvons affirmer que ce que nous avons appelé plus haut, dans le courant de ce livre, *la dépense de construction des tissus* n'absorbe à son profit qu'une minime partie de l'oxygène que nous savons mis en œuvre dans le procès que nous étudions. La plus grande partie est évidemment employée à ce que nous avons appelé *la dépense d'entretien*. Une cellule vivante n'est vivante qu'à la condition d'exercer autour d'elle un travail positif pour lequel elle a besoin de trouver de la chaleur quelque part. C'est à cela, en grande partie, que lui sert le phénomène de la respiration dont elle est le siège. L'oxygène d'un côté, la matière alimentaire de l'autre, tels sont les éléments dont le conflit devient pour elle une source de force ; et si on suppose, comme cela a lieu dans tous les cas que nous étudierons, qu'il y ait constamment de la matière alimentaire présente, nous avons le droit de dire que l'oxygène est pour elle la source de l'activité vitale, de l'énergie qu'elle est à chaque instant obligée de dépenser.

Il est pourtant inexact, sans doute, de dire que cette énergie est uniquement employée à la dépense d'entretien. Il est probable qu'une portion est consommée comme dépense de construction des tissus. Lorsqu'on voit d'un côté que la levure renferme plus de carbone que le sucre, de l'autre que toute apparition nouvelle de tissus dans une plante quelconque s'accompagne d'une plus abondante absorption d'oxygène, et même dans certains cas, dans la germination, par exemple, d'un dégagement sensible de chaleur, il est difficile de ne pas croire, malgré les calculs contraires et un peu hypothétiques de M. Berthelot, que l'édification des tissus de la levure ou d'un végétal quelconque n'exige pas la dépense et l'immobilisation d'une certaine quantité de chaleur. Dans tous les cas pourtant, cette dépense est faible et hors de proportion avec la dépense d'entretien. Comme l'a fait remarquer M. Pasteur, lorsqu'on considère un être vivant quelconque, une minime partie de l'énergie empruntée aux aliments est employée à la formation du *cadavre*. Le reste de cette énergie a été dépensé pendant la vie. Il n'y a aucune relation entre le poids considérable des aliments exigés pour la vie d'un animal pendant son existence et le poids de son corps, entre l'épargne d'énergie chimique accumulée dans l'organisme, et celle qui s'est dépensée pendant la vie, qui n'a fait que traverser le corps, et se retrouve tout entière sous forme de chaleur dégagée, de travail effectué, et sous forme d'énergie chimique contenue dans les produits excrétés. C'est à produire cette dernière énergie que sert presque tout entier l'oxygène dans les conditions où nous nous sommes placés, et pour lesquelles nous supposons qu'il n'y a eu que des effets de combustion directe, et point du tout d'alcool produit.

Cette source d'énergie fait complètement défaut quand on fait vivre et développer la levure dans un liquide privé d'oxygène. Il est vrai que là le développement est moins rapide, mais par contre, la durée du phénomène est plus longue, et la dépense d'énergie n'est pas seulement proportionnelle au nombre des cellules actives, elle l'est aussi à l'intensité et à la durée de leur vie. Si donc nous admettons, comme nous sommes évidemment obligés de le faire, que les besoins de la cellule soient restés les mêmes, il nous faut quelque chose pour remplacer l'action de l'oxygène. Nous ne trouvons pour cela que le phénomène

nouveau qui apparaît dans ces conditions, le dédoublement du sucre en alcool et en acide carbonique.

Il faut, par conséquent et de toute nécessité, si notre induction est juste, que ce dédoublement se fasse avec dégagement de chaleur, c'est-à-dire que le sucre soit une substance endothermique, comparable en certains points aux corps explosifs, et laisse comme résultat de sa transformation une certaine quantité de chaleur disponible.

C'est en effet ce que l'expérience vérifie. D'après les nombres donnés par M. Berthelot, un équivalent en grammes, soit 180 grammes de sucre de raisin, peut donner en brûlant 713,000 calories. En supposant que le dédoublement dans la fermentation ait lieu en entier suivant l'équation

$$C^{12}H^{12}O^{12} = 2C^{4}H^{6}O^{2} + 4CO^{2},$$

on trouve dans le second membre un corps complètement brûlé, l'acide carbonique, et 2 équivalents d'alcool dont la combustion donnerait 2 fois 321,000 = 642,000 calories. La différence avec le chiffre relatif au sucre de raisin, soit 71,000 calories, représente la chaleur mise en liberté dans le dédoublement, ou celle qu'il faudrait dépenser pour reformer 180 grammes de sucre avec l'alcool et l'acide carbonique de la fermentation. Il équivaut, comme on voit, à peu près au $\frac{1}{10}$ de celui que donnerait la combustion directe par l'oxygène de la même quantité de sucre.

Élévation de température pendant la fermentation. — Cette source de chaleur et d'énergie, due à une action tout autre que celle de l'oxygène libre, peut donc la remplacer, surtout dans les conditions particulières que nous indiquerons tout à l'heure. Nous avons à montrer d'abord qu'elle n'est pas théorique. Nous pouvons la rapprocher en effet, de suite, de l'élévation de température constamment observée dans les liquides en fermentation. C'est un fait de connaissance ancienne que la vendange s'échauffe pendant la préparation du vin. L'élévation de température, variable avec l'activité de la fermentation, la dose de sucre, la capacité des vases, les circonstances extérieures, peut s'élever de 15° à 20° dans quelques cas exceptionnels.

Le chiffre théorique, en admettant que les 180 grammes de sucre de raisin que nous envisageons plus haut soient dissous dans 1 litre d'eau et que la chaleur spécifique du liquide soit l'unité, serait, d'après le chiffre ci-dessus, précisément de 71°. Mais ce chiffre est purement théorique. C'est celui qu'on obtiendrait si on pouvait réaliser instantanément la transformation du sucre dans un vase imperméable à la chaleur, sans employer de levure, et sans laisser échapper d'acide carbonique. Il faudrait ajouter quelque chose à ce chiffre pour tenir compte de la différence de chaleur de dissolution de 180 grammes de sucre de raisin et de 72 grammes d'alcool, c'est-à-dire du sucre initial et de l'alcool qui l'a remplacé. Cette différence est positive et faible. Il faudrait aussi tenir compte de la chaleur de dissolution de l'acide carbonique sous la pression nécessaire pour le maintenir dissous. Nous négligerons ces deux causes de réchauffement.

Les causes de refroidissement, dues aux conditions physiques dans lesquelles il faut se placer pour réaliser le phénomène, sont bien autrement puissantes.

Il y a d'abord le dégagement de l'acide carbonique, dont il se forme 44 litres dans notre hypothèse. En supposant que ce dégagement ait lieu sous la pression atmosphérique ordinaire de 103 kilogrammes par décimètre carré, on trouve que la chaleur nécessaire au dégagement abaisserait de 10° environ la température du liquide.

Vient ensuite la perte par rayonnement. La transformation n'est pas instantanée et, pendant qu'elle dure, le liquide fermentant perd constamment de la chaleur qui jusqu'ici n'a pas encore été mesurée.

C'est sur le résidu disponible, après que ces deux causes principales de refroidissement ont agi, que la levure puise pour ses besoins vitaux, et tout ce qui reste, une fois que ceux-ci sont satisfaits, est de la chaleur sensible. On comprend donc que les plus fortes élévations de température aient été observées dans les immenses vases à fermentation des distilleries où on met en fermentation des centaines d'hectolitres de mout, additionnés de levure toute faite, qui se reproduit peu, et fait fermenter énergiquement la masse.

Ferment et matière fermentescible. — La vérification expérimentale que nous venons de faire du caractère exothermique de la réaction qui transforme le sucre en alcool et acide carbonique, nous autorise à prendre confiance dans notre conception et à la généraliser. Nous avons vu que toute cellule ayant d'ordinaire des besoins d'oxygène, et pouvant, lorsqu'on lui supprime ce gaz, vivre aux dépens d'un composé oxygéné, pouvait devenir un ferment pour ce composé. Cette conception élargit évidemment beaucoup, et même d'une façon presque indéfinie, le cadre des cellules ferments. Il importe de remarquer qu'elle rétrécit par là même le champ des substances fermentescibles. Pour pouvoir fermenter, une substance organisée ne devra pas seulement, cela va sans dire, être endothermique et formée avec absorption de chaleur. Elle devra encore fournir, dans la transformation qu'elle subira, une réaction exothermique, et donner des produits dont l'énergie totale sera moindre que la sienne.

Le sucre est dans ce cas, l'alcool n'y est plus, bien qu'il soit lui-même endothermique. Mais il n'y a pas avec lui de transformation connue, opérée sans intervention étrangère et se résumant en un dégagement de chaleur. Par conséquent, il ne pourra fermenter. On a le droit de croire que c'est précisément à cause de cela qu'il est lui-même un produit résiduel de diverses fermentations. Mais ce même alcool, non fermentescible par lui-même, incapable de se dédoubler en laissant libre une énergie suffisante pour alimenter la vie d'un infiniment petit, pourra être atteint, transformé ou même brûlé, si on fait intervenir l'oxygène de l'air. Cet appoint venu de l'extérieur pourra dès lors suffire à de certains microbes, et on pourra, suivant les espèces mises en jeu, soit brûler imparfaitement cet alcool en l'amenant à l'état d'acide acétique, soit le transformer complètement en eau et en acide carbonique.

De même le sucre, par une réaction purement exothermique, peut donner de l'acide lactique ou plutôt du lactate de chaux; celui-ci, par une réaction

toute exothermique aussi, donnera du butyrate de chaux. Mais celui-ci, comme l'alcool, ne pourra plus fermenter, et devient comme lui un produit résiduel d'un grand nombre de fermentations diverses. Il pourra seulement être détruit, soit par les végétations cryptogamiques, soit par les bactéries aérobies, qui, puisant la force dans l'oxygène de l'air, peuvent agir sur des substances organiques très faiblement endothermiques. Toutefois, là encore il y aura des limites; le butyrate, l'acétate, même le formiate d'ammoniaque peuvent nourrir des bactéries. D'après MM. Dupont et Hoogewerf, l'oxalate d'ammoniaque ne le peut plus, le carbonate d'ammoniaque non plus. Ce dernier est un corps brûlé, l'autre a trop peu d'énergie disponible, et, comme les précédents, on les rencontre fréquemment tous deux comme résidus des transformations de diverses substances au contact de l'air.

L'énergie accumulée dans la substance fermentescible, voilà donc l'essence des phénomènes de fermentation ; le reste, la nature du ferment et de la substance fermentescible n'est que mode, et par conséquent est d'ordre secondaire. La cause profonde est le dégagement de chaleur dont peut profiter le ferment. Cette conception diffère en apparence beaucoup de celle à laquelle nous étions arrivés en premier lieu, et dans laquelle nous attribuions le phénomène aux besoins d'oxygène du ferment, et à la faculté que nous lui supposions de vivre aux dépens de l'oxygène combiné. Si on réfléchit un instant, et si on songe au rôle que nous avons donné plus haut à l'oxygène, on trouvera que les deux conceptions n'en font qu'une. De la levure ensemencée dans un milieu désaéré, dans les conditions où il y a fermentation, forme ses tissus aux dépens d'oxygène qu'elle emprunte nécessairement au sucre, et trouve la chaleur nécessaire à l'entretien de sa vie dans le sucre qu'elle décompose en alcool et en acide carbonique. Pour fournir cette chaleur, le sucre doit évidemment être sollicité à se décomposer. Si on ne veut pas admettre que c'est en lui empruntant l'oxygène que la levure le décompose, on en a le droit, mais alors il faut, pour expliquer cette décomposition, introduire une hypothèse nouvelle sans relation avec aucun fait connu, en même temps qu'on renonce à une hypothèse plausible. Il est vrai, comme nous le disions plus haut, que, dans notre hypothèse, le mécanisme est inconnu, mais il ne l'est pas plus que dans un autre quelconque des problèmes que soulève la nutrition des êtres vivants.

La théorie que nous adoptons a encore un avantage sur lequel nous insisterons en terminant : c'est qu'elle identifie dans leur essence et dans leur mode les phénomènes profonds de la nutrition chez toutes les cellules vivantes. Dans une graine qui germe, dans un végétal qui s'accroît, dans un animal qui grandit, comme dans une cellule de levure qui se développe, nous trouvons trois faits concomitants: respiration active donnant de la chaleur, destruction d'une certaine quantité de matière organique, formation en quantité beaucoup moindre de tissus nouveaux. La science ne nous dit encore rien de bien précis sur les relations qui unissent ces trois phénomènes, mais l'expérience nous apprend qu'ils marchent toujours de pair et qu'ils constituent par suite la base de tout phénomène de nutrition. Ils subissent, il est vrai, d'une espèce à l'autre, des changements de mode, mais qui n'en altèrent pas le caractère essentiel.

Considérons en effet l'animal qui grandit. Il brûle à l'aide de l'oxygène une partie

de la matière alimentaire qu'on lui fournit, en même temps qu'il s'en assimile une autre portion. Rien ne nous autorise en effet à croire que l'air qu'il consomme soit employé à brûler uniquement des tissus déjà formés. Les mutations vitales deviendraient, dans cette hypothèse, d'une énergie prodigieuse. Le corps entier de l'animal devrait se brûler et se reconstituer dans l'espace de quelques jours. Il est clair qu'ici, comme à propos de la levure, à côté des réactions assimilatrices, il y a un procès respiratoire destiné surtout à être producteur de chaleur, s'exerçant dans le sang aux dépens des aliments qui ont reçu dans le canal digestif une première élaboration, et donnant à l'ensemble des organes la température qui assure leur fonctionnement régulier.

Chez le végétal qui pousse, la respiration s'exerce aux dépens des éléments contenus dans le suc protoplasmique, et élaborés par le végétal lui-même. Il existe en effet chez ce végétal, comme nous avons eu l'occasion de le faire remarquer, en quelque sorte deux individus superposés, le végétal chlorophyllien qui a une respiration désoxydante et est producteur de matière, le végétal cellulaire qui consomme l'oxygène et détruit les matériaux que le premier lui a créés. Par suite de cette superposition, la respiration oxydante, qui permet d'assimiter le végétal à un animal ou à notre globule de levure, est souvent masquée derrière une respiration réductrice, mais elle existe, et nous avons le droit de l'envisager séparément. Elle permet d'assimiler complètement la cellule végétale à celle de la levure. Dans toutes deux, l'aliment venu de l'extérieur est consommé à l'intérieur de la cellule, lorsqu'il a fait partie du suc protoplasmique, et en vertu d'un mécanisme identique.

La ressemblance est encore plus accusée entre la graine qui germe et la levure qui se multiplie. Ici, jusqu'au moment où le jeune végétal commence à former ses parties vertes, tout est pareil, respiration oxydante, dépense alimentaire, formation de tissus nouveaux en proportions comparables, lorsqu'on les rapporte à une même quantité d'aliments consommés.

En quoi donc la levure diffère-t-elle notablement de tous les êtres qui précèdent? Uniquement en ceci, qu'elle a normalement la faculté, obscure ou passagère chez les autres, d'emprunter la chaleur qui lui est nécessaire pour la formation de ses tissus et le maintien de sa vie à une autre source qu'eux. Cette source est en moyenne peu abondante, et il en résulte quelque chose de disproportionné dans les allures vitales des ferments. Une cellule de levure qui ne trouve, dans la décomposition en acide carbonique et en alcool de 1 gramme de sucre, que le $\frac{1}{10}$ de la chaleur que lui fournirait une combustion complète, est obligée d'en dépenser dans le même temps dix fois davantage, et ce chiffre lui-même peut s'élever, suivant les conditions de durée du phénomène, de température du milieu où il s'accomplit, de nature de la cellule qui y prend part, etc. Bref, on voit que nous trouvons naturellement là la source de ce que nous avons appelé le caractère ferment, c'est-à-dire de la disproportion entre le poids de matière morte transformée et le poids de matière vivante entrée en action. Cette disproportion est maximum chez les ferments anaérobies, chez ceux auxquels il faudrait pouvoir réserver le nom de ferments, parce que ce sont les seuls qui fournissent le type de ce qu'on appelle depuis longtemps fermentation, c'est-à-

dire d'une transformation chimique accomplie à l'abri de l'air avec dégagement gazeux. L'absence d'autre terme, et les ressemblances profondes de ces êtres anaérobies avec les êtres aérobies, ont fait qu'on appelle aussi ces derniers de ce même nom de ferments, que nous avons souvent employé et emploierons souvent dans le cours de ce livre. Cela n'a au fond aucune importance, à la condition d'être prévenu, et de faire au besoin la distinction entre les ferments anaérobies, qui sont les vrais ferments, et les autres.

Vie anaérobie. — Il est une dernière conséquence des faits précédents que nous avons à tirer. Il est clair que les notions acquises sur le caractère permanent de la vie anaérobie de certaines cellules, sur la faculté dont jouissent certaines autres de changer en vie anaérobie plus ou moins durable leur vie ordinaire au contact de l'air, ont introduit dans la science une idée physiologique nouvelle. Ce n'est pas ici le lieu de la développer, mais elle a une face que nous devons mettre en lumière, comme se rattachant intimement à l'étude des infiniment petits à laquelle ce livre est consacré.

Nous avons montré qu'en ensemençant une trace de levure dans un milieu ne renfermant que du sucre, des éléments minéraux, un sel ammoniacal comme élément azoté, et un peu d'oxygène pour aider aux premiers développements de la levure, nous obtenions, sans autre intervention extérieure, un poids de végétal vivant assez notable, avec toute la complexité de composition que présentent les tissus les mieux organisés. Cette même création de matière vivante, nous avons pu la réaliser, et nous la réaliserons pour presque tous les êtres étudiés dans ce travail. Il est impossible de ne pas voir le grand intérêt physiologique de ces expériences. Elles démontrent, entre autres résultats, que toutes les matières protéiques existant dans notre monde des infiniment petits peuvent prendre naissance par l'activité vitale des cellules, mettant en œuvre des substances hydrocarbonées hors de l'influence de la lumière et de l'oxygène libre (ou avec le concours de l'oxygène libre, s'il s'agit des moisissures aérobies), avec des sels ammoniacaux, des phosphates et des sulfates de potasse et de magnésie. On pourrait admettre à la rigueur qu'un effet semblable se produit dans les plantes supérieures. Quel motif sérieux pourrait-on même invoquer, dans l'état actuel de la science, pour ne pas considérer cet effet comme général? Il ne serait donc pas illogique d'étendre les résultats dont nous parlons à toutes les plantes, et de croire que les matières protéiques des végétaux et peut-être même celles des animaux se forment exclusivement par l'activité des cellules agissant sur les sels ammoniacaux, les sels minéraux de la sève ou du plasma du sang, et les matières hydrocarbonées, dont la formation, dans les végétaux supérieurs, exigerait seule le concours des forces chimiques de la lumière et de la chlorophylle verte.

Dans cette manière de voir, la formation des matières protéiques serait indépendante du grand acte de réduction du gaz carbonique sous l'influence de la lumière. Ces matières ne seraient pas édifiées par les éléments de l'eau, de l'ammoniaque et du gaz carbonique à la suite de la décomposition de ce dernier; elles se formeraient sur place, dans les cellules mêmes, par une copulation entre

les matières hydrocarbonées, charriées par la sève, les phosphates de potasse et de magnésie, et les sels d'ammoniaque.

Quoi qu'il en soit, si la radiation solaire est indispensable pour la décomposition de l'acide carbonique et l'édification des principes immédiats chez les grands végétaux, certains organismes inférieurs peuvent s'en passer et fournir néanmoins les substances les plus complexes, substances grasses, substances hydrocarbonées, telles que la cellulose, acides organiques divers, matières protéiques, non toutefois en empruntant leur carbone au gaz acide carbonique qui est saturé d'oxygène, mais à d'autres matières encore oxydables et capables de fournir de la chaleur par cette oxydation, l'alcool et l'acide acétique, par exemple, pour ne citer que les composés carbonés les plus éloignés de l'organisation. Comme ces derniers composés et une foule d'autres, également propres à servir d'aliment carboné aux mycodermes et aux mucédinées, peuvent être produits synthétiquement à l'aide du carbone et de la vapeur d'eau, par les méthodes que la science doit à M. Berthelot, il en résulte que la vie serait possible chez certains êtres inférieurs, alors même que la lumière solaire viendrait à disparaître.

BIBLIOGRAPHIE

Pasteur. — Expériences et vues nouvelles sur la nature des fermentations. *Comptes rendus*, t. LII, 1861.

Liebig. — Sur la fermentation et la source de la force musculaire. *Ann. de phys. et de chim.* 4e série, t. XXIII, p. 5, 1870.

Pasteur. — *Etudes sur la bière*. Paris, 1876.

— *Examen d'un écrit posthume de Cl. Bernard sur la fermentation alcoolique*. Paris, Gauthier-Villars, 1879.

Pasteur et Berthelot. — Discussion sur la fermentation alcoolique. *Comptes rendus*, passim., LXXXVII et LXXXVIII.

CHAPITRE XXXVIII

FABRICATION DE LA BIÈRE. — PRÉPARATION DU MOUT

Nous avons terminé l'étude expérimentale et théorique de la fermentation alcoolique. Nous allons maintenant essayer d'appliquer les notions acquises dans les chapitres précédents à l'étude de la fabrication de la bière. Il ne s'agit pas ici, bien entendu, de passer une revue de détail de tous les faits de cette importante industrie. La place manquerait, et d'ailleurs la science n'est pas encore, croyons-nous, assez mûre pour cette œuvre; mais il est possible déjà d'examiner, au point de vue scientifique, les principales pratiques de cette fabrication et de montrer quelles sont leurs raisons d'être et leurs résultats. Cela ne sera inutile, ni pour les savants qui ne connaissent qu'en gros les opérations de la brasserie, ni pour les brasseurs qui, sauf d'honorables exceptions, n'en savent guère plus sur leur industrie que les ouvriers auxquels ils la confient. Ils ont reçu de leurs prédécesseurs, ils transmettent eux-mêmes à leurs successeurs de certaines règles pratiques, même certains tours de main, moyennant lesquels ils font à peu près le lendemain ce qu'ils ont réussi à faire la veille, et dont ils ont appris, souvent à leurs dépens, qu'il était imprudent de s'écarter. Mais ils ignorent le mécanisme profond de l'action qui s'accomplit sous leurs yeux, et lorsqu'elle s'arrête ou dévie, ils n'ont d'autre recours que l'empirisme ou la routine. Nous allons voir que la fabrication de la bière est à la vérité une opération compliquée, et qu'il y a lieu de s'étonner qu'on soit arrivé, par une pratique séculaire, à la réussir quelquefois si bien; mais il n'en est pas moins vrai que chacun de ses actes a sa raison d'être, qu'il faut connaître pour la mener à bien.

Nous prendrons pour exemple la fabrication des *ales* anglaises, parce qu'elle est en ce moment la mieux connue, grâce aux recherches de M. O'Sullivan, dont nous avons déjà cité les travaux sur la transformation de l'amidon en maltose. Résumons brièvement les principaux résultats du travail de ce savant, parce qu'ils sont le prélude indispensable de tout ce que nous allons avoir à étudier.

Lorsqu'on fait agir sur de l'amidon de l'extrait de malt en quantité suffisante, à une température inférieure à 63°, l'amidon se transforme rapidement en un mélange, formé approximativement de deux de maltose pour un de dextrine. Si la température est comprise entre 64° et 68-70°, le mélange contient un de

maltose pour deux de dextrine. Lorsque l'action a lieu vers 68° ou 70°, au voisinage immédiat de la température où l'amylase se détruit par la chaleur, le mélange contient environ un de maltose pour cinq de dextrine. Ajoutons tout de suite que le maltose est fermentescible immédiatement, tandis que la dextrine ne le devient qu'au prix d'une transformation préalable dont nous aurons à déterminer l'agent.

Toutes ces diverses réactions sont très nettes, si l'extrait de malt n'est ni en défaut ni en excès, et se trouve dans des proportions que nous avons appris à connaître. L'action s'accomplit alors très régulièrement dans une durée de dix ou quinze minutes.

Lorsque la diastase est en excès ou en défaut, lorsque le temps laissé à l'action est insuffisant ou exagéré, on voit alors intervenir les phénomènes que nous avons signalés d'une manière générale à propos de l'action des diastases. Trop peu de temps, trop peu de diastase rendent la transformation incomplète, peuvent ou laisser de l'amidon inaltéré, ou ne pas donner, aux diverses températures indiquées plus haut, les proportions voulues de dextrine et de maltose. Il se passe là des phénomènes qui n'ont pas encore été étudiés complètement, parce qu'ils n'ont qu'une importance pratique médiocre. Il n'arrive, en effet, presque jamais que la diastase ne soit pas en quantité suffisante. Mais elle peut être en excès, ou on peut laisser son action s'exercer au delà du temps nécessaire, ce qui revient au même au point de vue du résultat. Dans ce cas, on peut arriver, d'après M. O'Sullivan, à la suppression presque complète de la dextrine, ou à une transformation presque intégrale de l'amidon en maltose. Mais ce cas extrême est encore un cas exceptionnel, pour deux raisons: la première c'est que les pratiques de la brasserie ne donnent jamais à la diastase le temps suffisant pour épuiser son action; la seconde est que les proportions de dextrine et de maltose trouvées par M. O'Sullivan à diverses températures constituent, en quelque sorte, des états d'équilibre stable auxquels, suivant la loi de tous les équilibres, la matière arrive vite, et dont elle ne s'écarte ensuite que lentement, de sorte que, grâce à ce fait, il y a dans la fabrication une sorte de marge dont on peut dire, à coup sûr, qu'elle a pallié jusqu'ici bien des opérations défectueuses.

Avec ces notions, nous pouvons entrer dans l'étude des diverses opérations qu'exige la transformation du grain d'orge en bière potable, limpide et savoureuse.

Maltage. — La graine d'orge mûre contient, au dire de M. O'Sullivan, un peu d'amylase capable d'agir sur l'amidon pour le liquéfier. Mais l'amylase s'y développe surtout lorsqu'on la soumet à la germination dans l'opération connue sous le nom de *maltage.*

Pour cela, on laisse d'abord tremper le grain dans l'eau pendant deux ou trois jours, suivant sa légèreté ou l'épaisseur de sa peau. Lorsqu'il est suffisamment imbibé, on l'étend en couche peu épaisse sur le plancher de la pièce à maltage, qui est, en général, un caveau où la température se maintient au voisinage de 15° centigrades. La germination commence dans toute la masse à la fois. Pour la rendre aussi régulière que possible, répartir également l'air, la lumière, et

éviter l'action de l'acide carbonique qui se dégage, on soumet le tas de grain à des pelletages fréquents, exécutés pourtant assez doucement pour ne pas briser les radicules ou la plumule germinative ; cette dernière, du reste, se défend assez bien, attendu qu'elle pousse sous les enveloppes du grain. Les autres céréales, développant leur plumule à l'extérieur, ne pourraient pas être maltées par les mêmes procédés que l'orge.

Au fur et à mesure que la plumule grandit, la proportion de diastase qui se développe dans le grain augmente d'abord, puis reste un instant stationnaire, et finirait par disparaître, si on laissait à la jeune plante le temps de vider le sac embryonnaire qui lui a fourni ses premiers éléments. C'est sur la longueur de la plumule que le malteur se règle pour arrêter l'action au moment voulu. Si on la laisse croître seulement jusqu'au tiers de la rainure du grain, la diastase produite sera en petite quantité, elle pourra ne pas suffire à transformer tout l'amidon, laissera, toutes choses égales d'ailleurs, prédominer la dextrine dans les produits de transformation. La bière sera *étoffée*, dextrineuse, aura, comme on dit, du corps et de la bouche, et sera peu alcoolique. Laisse-t-on au contraire pousser la radicule plus loin, la diastase sera en grande quantité, la bière sera plus sèche et plus alcoolique.

Le malt contient donc en principe quelques-unes des propriétés de la bière, et, soumis aux mêmes manœuvres, peut donner des produits différents. On voit donc que les brasseurs, dont l'intérêt est de produire un type de bière déterminé, variable en général de l'un à l'autre, mais toujours identique à lui-même, n'ont pas le droit de se désintéresser des pratiques de la fabrication du malt. *Le maltage est essentiellement une opération de brasserie.* Dans la pratique pourtant, il forme l'objet d'une industrie spéciale. Le malteur est distinct en général du brasseur. Il y a à cela l'avantage que les deux opérations sont en général mieux faites, et plus régulièrement, étant faites toutes les deux par des hommes spéciaux ; mais si le malteur peut se désintéresser du brasseur, le brasseur reste lié au malteur par un lien étroit. Sans doute, en s'adressant toujours au même malteur, il pourra obtenir un malt toujours identique à lui-même ; mais s'il change de malteur, ou si celui-ci modifie sa fabrication, il faudra que le brasseur modifie lui aussi ses procédés, pour revenir au type de bière qui constitue sa vente ordinaire.

Quels que soient le mode et le temps de maltage, il faut à un moment donné interrompre la germination commencée, pour qu'elle n'aille pas trop loin et n'arrive pas à l'épuisement partiel ou total des matériaux accumulés dans le grain. On obtient ce résultat en soumettant le grain à une dessiccation suffisante dans l'opération du *touraillage*.

Touraillage. — Cette dessiccation doit se faire avec certaines précautions. Si on chauffait trop brusquement le grain humide, on transformerait au moins ses couches extérieures en empois qui, en se desséchant ultérieurement, enroberait le grain comme d'une sorte de croûte solide, résistant au broyage, et impossible à délayer dans l'eau. Sous cette enveloppe devenue imperméable par le *glaçage* qu'elle aurait subi, l'intérieur du grain resterait aussi humide, et la température s'élevant, la diastase risquerait d'être détruite, ou au moins d'être

beaucoup affaiblie. Il faut donc chauffer lentement tout d'abord, plus fortement ensuite, lorsque la diastase, déjà desséchée, n'a plus autant à craindre l'action de la chaleur.

On étend pour cela le grain malté, en couche mince, sur un plancher horizontal (*b*) (fig. 67) formé d'un treillage métallique ou d'une tôle perforée. Cette plate-forme, de plusieurs mètres carrés de surface, et supportée par des poutrelles de fer (*d*), représente la base d'une sorte de tronc de pyramide quadrangulaire renversée, dont la plus petite base est occupée par un fourneau. Ce fourneau, placé à 3 ou 4 mètres au-dessous de la plate-forme, déverse dans l'intérieur de la touraille tous ses produits de combustion (dans lesquels on s'applique autant que possible à brûler la fumée) et toute sa chaleur disponible. Des courants d'air froid, puisé à l'extérieur, et pénétrant dans la chambre au moyen d'ouveaux (*g*), servent à en régulariser la température suivant les besoins. Le chapeau *e* est destiné à empêcher les poussières ou radicelles tombant du tas d'orge d'aller se brûler dans le fourneau, où elles pourraient donner une odeur désagréable.

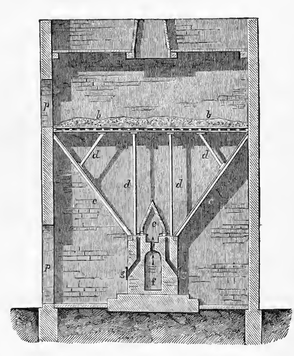


Fig. 67.

L'orge est retournée plusieurs fois à la pelle sur le plancher qui la porte, de façon à rendre sa dessiccation plus rapide à la fois et plus uniforme. L'opération dure en moyenne quarante-huit heures. On ne dépasse pas en général la température de 50°. Mais on donne quelquefois, à la fin de la dessiccation un fort coup de feu, de façon à torréfier la pellicule superficielle du grain et à en cara-

méliser les couches amylacées extérieures. Les produits ainsi formés serviront ultérieurement à donner un peu plus de couleur à la bière et à en modifier le goût.

Composition du malt. — Au point où nous en sommes arrivés, la matière première de la fabrication de la bière est produite, et il est nécessaire de prendre une idée de sa composition. Voici, pour cela, les résultats de l'analyse de deux malts de *pale ale*, empruntés à M. O'Sullivan. Ces résultats peuvent être considérés comme typiques pour la plupart des malts de *pale ale*, bien que les proportions de matériaux azotés et carbonés puissent un peu varier par suite de changements dans les procédés de *maltage* et de *touraillage*.

	Malt n° 1.	Malt n° 2.
Amidon	44,15	45,13
Hydrates de carbone solubles dans l'eau froide	21,23	19,39
Cellulose	11,57	10,09
Matières grasses	1,65	1,96
Matières azotées	13,09	13,89
Cendres	2,60	1,92
Eau	5,83	7,47
	100,12	99,76

La petite variation qu'on remarque dans les totaux tient à ce que chacune des substances comprises au tableau ci-dessus a été évaluée directement et non par différence. Mais ce tableau n'est qu'un résumé; et on n'aurait pas une idée exacte de la composition du malt si nous n'entrions pas dans quelques détails sur quelques-uns de ses éléments constituants, rassemblés au tableau ci-dessus sous une mention unique.

Amidon. — Pour l'amidon, il n'y a rien de particulier à dire. Il est dans le malt sous sa forme ordinaire, quelquefois intact, quelquefois légèrement exfolié par la dessiccation. Mais il a conservé sa propriété de bleuir sous l'action de l'iode.

Hydrates de carbone solubles dans l'eau froide. — On comptait autrefois la dextrine au nombre de ces hydrates de carbone. M. O'Sullivan n'a pu trouver de traces de cette substance, malgré un examen attentif et l'emploi de réactifs très délicats. En revanche, il a trouvé qu'il y avait beaucoup plus de sucre qu'on n'en admettait ordinairement. Il en a trouvé de 16 à 20 p. 100. La moitié environ de ce sucre provient du commencement de transformation subi par l'amidon pendant le maltage. Le reste est déjà formé dans l'orge et diffère par ses propriétés de celui qui est produit pendant le maltage. La nature vraie de ces deux espèces de sucre est encore inconnue.

En outre, il y a dans le malt un hydrate de carbone du type amidon, déviant à gauche le plan de polarisation de la lumière. D'après ses propriétés générales, M. O'Sullivan est disposé à le considérer comme de l'inuline. L'inuline et les deux sucres de plus haut constituent la presque totalité des hydrates de carbone

solubles dans l'eau. Je fais remarquer de suite que les sucres sont immédiatement fermentescibles, tandis que l'inuline a besoin d'une transformation préalable pour acquérir cette propriété.

Matières albuminoïdes. — Ce qui est rassemblé sous ce nom dans le tableau de plus haut forme un mélange certainement très complexe, et il n'existe dans la science aucun moyen d'en séparer les divers éléments. M. O'Sullivan a dû se borner à en faire l'étude pratique, en examinant comment se partageaient ces matériaux pendant la fabrication de la bière, et aux températures auxquelles le malt est soumis pendant le brassage, qui, pour la *pale ale*, se fait à 68-70°. Voici les catégories faites, en partant de ce point de vue, et les nombres obtenus pour les deux malts étudiés plus haut.

		Malt n° 1.	Malt n° 2.
a	Matériaux solubles dans l'eau froide et chaude	0,63	0,46
b	— solubles dans l'eau froide et dans l'eau à 68° C.	3,23	3,12
c	— solubles dans l'eau froide, insolubles entre 68° et 70° C.	0,48	0,37
d	— insolubles dans l'eau froide, solubles entre 68° et 70° C.	2,37	1,36
e	— insolubles dans l'eau froide, et dans l'eau à 70° C.	6,38	8,49
		13,09	13,89

Il n'y a rien à ajouter à ce tableau, dont les éléments ont surtout une valeur pratique. On peut remarquer pourtant que les matériaux *c* peuvent, avec les errements ordinaires, être comptés comme albumine. Ce que nous venons d'apprendre va nous permettre de savoir comment se distribuent ces matériaux, pendant les diverses opérations de la fabrication de la bière.

Brassage. — Cent parties d'orge sec, malté, touraillé, purgé par un passage au tarare de ses germes ou touraillons, se réduisent, en moyenne, à soixante-quinze parties de malt sec. On réduit ce malt en farine grossière au moyen de meules horizontales ou de cylindres écraseurs; il peut alors être soumis au brassage.

Cette opération a pour but de transformer tout l'amidon, encore contenu dans le malt, en matériaux solubles dans l'eau et en partie au moins fermentescibles. On y arrive en exposant le malt au contact de l'eau et à une température convenable.

L'opération se fait dans une vaste cuve, partagée en deux compartiments par un faux fond percé de trous, et qu'on nomme cuve-matière. On y fait arriver du malt concassé et une certaine quantité d'eau chaude. C'est là que se passe une des plus importantes périodes de la fabrication. Il ne faut, en effet, que se rapporter aux résultats de M. O'Sullivan, rappelés plus haut, pour voir combien peut être variable la proportion entre la dextrine et le maltose qu'on peut retirer d'un malt donné, suivant les variations du procédé opératoire.

S'il était possible de porter tout d'un coup le mélange de malt et d'eau à une température constante et déterminée, cette température jouerait un rôle facile à préciser en se rapportant aux résultats que nous connaissons, et serait seule à intervenir ou à peu près, le temps jouant comme nous l'avons vu, un rôle

relativement secondaire et dont on serait maître. Mais il est évident qu'il ne peut en être ainsi, et que le résultat obtenu sera fonction des diverses températures par lesquelles aura passé le mélange, et de la durée de leur action.

En fait, chaque brasserie a, à ce point de vue, ses pratiques spéciales et ses habitudes. Quand un brasseur est soigneux, il peut, en surveillant la température de son eau, en opérant en une seule fois, ou à plusieurs reprises, le mélange d'eau et de malt, en y mettant le même temps, et en s'entourant autant que possible des mêmes conditions, obtenir les mêmes résultats, car tous les phénomènes qu'il met en jeu n'ont rien d'inconnu, et dépendent uniquement de circonstances dont on peut se rendre maître, et qu'on peut toujours reproduire identiques à elles-mêmes. Mais il faut, pour arriver à ce résultat, des conditions de soin et de surveillance qui sont rares; et dès lors, si l'eau est plus ou moins chaude dans la chaudière où on la fait bouillir, si elle a un trajet plus ou moins long à parcourir pour arriver dans la cuve-matière, si cette cuve elle-même n'a pas été échauffée à une température convenable, si les quantités d'eau employée dans les affusions ou *trempes* successives que l'on fait quelquefois ne sont pas les mêmes, si le mélange n'est pas fait absolument dans les mêmes conditions, si une certaine quantité du malt est mise à un moment quelconque en contact avec une eau trop chaude qui en détruise la diastase, si la température n'est pas répartie également dans la masse à l'aide d'un brassage rapide et énergique, on pourra avoir dans la composition du moût des variations qui se traduiront fidèlement et forcément dans celles de la bière.

Nous n'avons pas pour objectif de passer en revue les diverses pratiques du brassage. Comme nous l'avons dit plus haut, elles varient d'une brasserie à l'autre, et dépendent du type de bière à fabriquer, des habitudes prises, et aussi, comme on peut le deviner, des conditions de local et d'outillage. Il nous suffit d'avoir indiqué la formule générale à laquelle elles obéissent. Pourtant, au milieu de l'infinie variété de formes qu'elles revêtent, on peut distinguer deux types principaux appelés depuis longtemps des noms impropres de *méthode par infusion* et de *méthode par décoction*. Comme ces méthodes ont une grande importance industrielle, il est bon d'en dire quelques mots. Nous allons trouver, en les étudiant, une application précise des lois générales que nous venons de poser.

Méthode par décoction. — Cette méthode est la plus généralement répandue. L'Allemagne, l'Autriche n'en emploient pas d'autre, et les grandes brasseries françaises l'ont aujourd'hui à peu près généralement adoptée,

En Bohême, dans la haute et basse Autriche, le malt, employé dans la proportion d'à peu près 20 ou 25 kilogrammes par hectolitre de moût, est d'abord mélangé à de l'eau à la température ordinaire. Puis il subit quatre trempes successives faites, non pas avec de l'eau nouvelle, mais par une portion du moût qu'on a renvoyée à la chaudière où on le chauffe à l'ébullition, et d'où il revient réchauffer la masse pâteuse que le brasseur a laissée dans la cuve-matière.

On comprendra facilement comment se font les opérations en se rapportant à la figure schématique 68, qui représente l'ensemble de la fabrication. La cuve-matière B, où doit se faire l'épuisement du malt, peut recevoir à volonté des

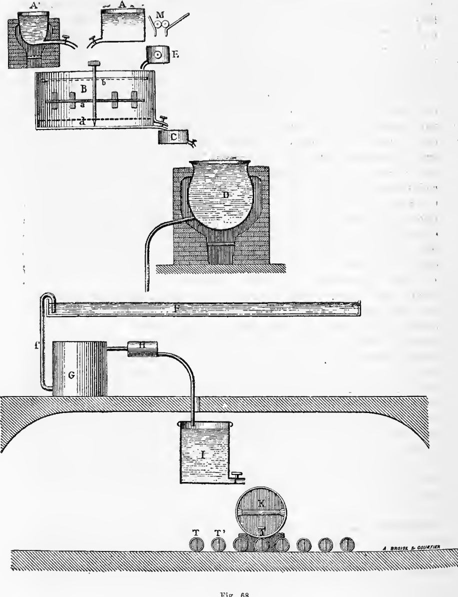


Fig. 68.
Schéma de la méthode par décoction.

A réservoir d'eau froide.
A' réservoir d'eau chaude.
M concasseur du malt.
E mélangeur.
B cuve-matière.
a agitateur mécanique.
b croix écossaise.
d double fond.
C cuve réverdoire.
D chaudière à cuisson.
F bac à refroidir.
G réfrigérant.
H filtre presse.
I cuve à fermentation.
K foudre.
T tonneaux d'expédition.

deux cuves A ou A' de l'eau froide ou de l'eau chaude. On commence par mélanger le malt avec de l'eau que nous supposerons froide, ce qui a lieu en effet quelquefois. C'est ce qu'on appelle faire l'empâtage ou la *salade*. Ce mélange se fait quelquefois en agitant avec des pelles à brasser, quelquefois avec un agitateur mécanique, quelquefois en introduisant à la fois le malt concassé et l'eau froide dans un mélangeur ou empâteur (*maisch*, E); cet appareil est formé d'une caisse en métal qu'on adapte aux bords de la cuve-matière, qui reçoit le malt par la partie supérieure et l'eau latéralement, sous pression et à la température voulue, par un tube qui la dissémine en une multitude de jets. L'eau imbibe ainsi le malt qui tombe autour d'elle, et le mélange est fait très régulièrement, très rapidement, et dans les proportions voulues, dont le brasseur est maître en manœuvrant les valves d'admission du malt et de l'eau.

Ce mélange fait, on donne une première trempe en prenant de l'eau bouillante en A, de façon à avoir environ 30° en B. On brasse énergiquement, on laisse reposer un quart d'heure, et on fait remonter en A, au moyen d'une pompe, une certaine quantité de ce mélange d'eau et de malt, de ce qu'on appelle du *trouble*, ce qui caractérise suffisamment son état; c'est la première *dickmaïsche* (*trempe épaisse*). On amène le tout à l'ébullition dans A, on fait bouillir trois quarts d'heure, et on le ramène alors dans B, où la température monte à 40° ou 45°. On brasse de nouveau et activement, c'est la deuxième *trempe*. On remonte ensuite en A une deuxième *dickmaïsche*. Au bout d'une demi-heure d'ébullition, on ramène en B. La température monte à 60°, c'est la troisième trempe. On laisse alors reposer un instant. On soutire alors une nouvelle fois le liquide, mais en allant le puiser non au-dessus, mais au-dessous du faux fond *d* que porte la cuve-matière; ce liquide contient de l'amidon en suspension, qui a passé au travers du faux fond, mais ne renferme plus de drêche; c'est ce qu'on appelle une *lautermaïsche* (*trempe claire*). On le soumet à un quart d'heure d'ébullition; on le ramène en B où la température monte à 72-74°, on brasse énergiquement et on abandonne à lui-même le mélange pendant une heure, pour donner à la saccharification, imparfaite encore, le temps de s'achever. Au bout de ce temps on purge le faux fond, et on retire une *tisane* claire que l'on soumet à une nouvelle ébullition, et que nous retrouverons tout à l'heure.

Quelques brasseurs empâtent avec de l'eau tiède et suppriment aussi la première dickmaïsche. Chez ceux qui suivent dans tous ses détails le procédé que nous venons d'indiquer, les quantités de liquide renvoyées au réchauffeur après chaque trempe varient d'une brasserie à l'autre, et avec elles, varie la température de la trempe suivante. Voici, d'après M. A. Girard, les températures en honneur dans la brasserie de Liesing, près de Vienne, et à Pilsen, en Bohême.

	Liesing.	Pilsen.
1° Mélange du malt avec l'eau à la température ordinaire. .	»	»
2° Première trempe chaude.	42°-43° C.	31° C.
3° Deuxième trempe.	53°	47°
4° Troisième trempe.	63°	60°
5° Quatrième trempe.	72°	72°

On voit que l'opération se termine toujours à 72°; c'est une température très

voisine de celle où la diastase est détruite par l'action de la chaleur, de sorte qu'il faut avoir grand soin de ne pas la dépasser, de peur de laisser la saccharification incomplète et d'immobiliser le moût avec la composition qu'il a acquise dans la lautermaïsche. Avant ce moment, les effets produits sont variables. Il est pourtant facile de préciser leur sens général.

Remarquons, en effet, que l'ébullition d'une portion du moût a pour résultat certain de détruire la diastase qui s'y trouvait contenue, de sorte que, envisagée dans ses traits généraux, la méthode par décoction a pour effet de diminuer, dans le malt, la proportion de la diastase à l'amidon. Elle laisse constante la quantité de matière à transformer, mais diminue la quantité de matière diastasique active. Nous en savons assez pour conclure que ce procédé donnera des bières dans lesquelles dominera la proportion de dextrine, et qui seront dès lors peu alcooliques, puisque les quantités de malt employées pour chaque hectolitre de moût restant constantes, tout ce qui en passe à l'état de dextrine est perdu pour la production de maltose et plus tard pour celle de l'alcool. Ces bières auront donc du corps et *de la bouche*, qualités qu'elles doivent à leur dextrine; elles seront faibles, parce qu'elles contiennent peu d'alcool. Quant à la *légèreté* qu'elles possèdent aussi, elles la doivent à la faible proportion de malt entrant dans leur fabrication. Leur finesse et leur solidité leur viennent surtout du mode de fermentation, dont nous n'avons pas à nous occuper pour le moment, et que nous retrouverons tout à l'heure.

Méthode par infusion. — Cette méthode est à son tour employée, à l'exclusion de toute autre, par la brasserie anglaise, et c'est à son aide qu'on obtient l'ale, le porter, le stout, etc. C'est l'ancienne méthode des brasseries françaises, et on la retrouve encore usitée en France sur un très grand nombre de points. Elle consiste à laisser infuser le malt à une température convenable avec de l'eau préalablement chauffée. Elle comprend en général deux trempes ou infusions successives; la seconde, faite à une température égale ou supérieure à celle de la première, est en même temps un véritable lavage, et a pour objet d'épuiser le malt de toutes les matières solubles et utilisables qu'il pourrait encore renfermer.

L'opération est plus simple que tout à l'heure. Le malt concassé est d'abord mélangé à de l'eau à 75° environ, de façon que le mélange soit à 56 ou 57° dans la cuve-matière. Comme il est très important d'opérer le mélange rapidement, de façon à éviter à la fois la formation des grumeaux et l'action destructive que l'eau à 75° exercerait sur la diastase, si sa température n'était pas subitement abaissée en tous les points, l'usage d'un mélangeur ou empâteur mécanique présente ici de grands avantages. Le plus employé est une sorte de trémie *t* (fig. 69) qui reçoit le malt. L'orifice de sortie est commandé par une valve, au-dessous de laquelle arrive, sous pression, l'eau qui mouille ce malt. La matière semi-fluide passe par un cylindre horizontal muni d'ailettes, dans lequel tourne un arbre garni de palettes. Le mouvement tourbillonnaire irrégulier produit par ce mécanisme opère en quelques instants un mélange très intime.

De là, le mélange passe dans la cuve-matière, dont les parois ont été chauffées à l'avance au moyen d'eau chaude, et il y reste plus ou moins longtemps

suivant les cas. Pour soutirer, on fait d'abord arriver un peu d'eau chaude sous le faux fond ; pour en nettoyer les ouvertures, on tire à clair, et l'on envoie le liquide dans la chaudière de coction. On fait ensuite une deuxième trempe en ajoutant de l'eau chaude et en brassant; on la traite comme la première. Cette deuxième trempe est un véritable lavage. Pour le rendre encore plus parfait. on distribue quelquefois l'eau chaude, à l'aide d'une croix écossaise, à la surface de la drêche contenue dans la cuve, en même temps qu'on laisse écouler le liquide par le faux fond.

Ce qui est essentiellement variable, dans cette méthode ainsi définie dans ses traits généraux, c'est la température de chacune des deux trempes. Elle doit être variable suivant la nature du produit à obtenir. Veut-on avoir une bière renfermant plus d'alcool et moins de dextrine, se rapprochant plus ou moins des vins, comme les belles bières anglaises telles que l'ale, il faudra brasser à une température voisine de 63° qui est celle où on obtient, comme nous l'avons vu, le maximum de maltose et le minimum de dextrine. On maintiendra cette température pendant trois quarts d'heure ou une heure, puis on s'élèvera rapidement à 72 ou 75° centigrades, comme dans la méthode par décoction. Veut-on avoir, au contraire, deux de dextrine contre un de maltose, on infusera à une température plus haute, en terminant toujours par un échauffement rapide jusqu'à 75°. Dans ces conditions, l'action de la diastase sera devenue plus lente, et la dextrine dominera comme cela a lieu lorsque cette diastase n'est pas en quantité suffisante, comme par exemple dans la méthode par décoction. Veut-on enfin obtenir des proportions intermédiaires de dextrine et de maltose, parties égales de l'une et de l'autre, on brassera toujours à 63°, on élèvera ensuite lentement la température, et on décantera le moût après deux ou trois heures, lorsqu'il aura atteint une température de 66-68° centigrades. Toutes ces notions, qui ne sont pas théoriques, mais qui résultent de la pratique des brasseries anglaises les plus connues, sont, comme on peut le voir, en parfait accord avec les résultats théoriques de M. O'Sullivan, que nous avons résumés en tête de cette étude.

Composition du moût. — Nous pouvons même pousser plus loin la comparaison de la théorie avec l'expérience, en nous demandant si la composition du moût est bien celle que nous pouvions prévoir en connaissant, d'un côté, la composition du malt que nous avons analysé plus haut, d'un autre côté, la température du brassage. Pour la fabrication de la *pale ale*, on dirige l'action de façon à obtenir deux de maltose contre un de dextrine, et on termine l'opération à 68°. Le moût doit par conséquent contenir, en se rapportant à l'analyse du malt donnée plus haut, les produits de transformation de l'amidon, les hydrates de carbone solubles, une portion des matières grasses qui entre en suspension, une partie des cendres, et, parmi les matières albuminoïdes, toutes celles qui sont solubles au-dessous de la température maximum du brassage, c'est-à-dire 68°. Le résidu, renfermant de la cellulose, des matières albuminoïdes, les petites quantités d'amidon ou de sucre non enlevées dans la deuxième trempe, constitue la drêche, et sert à la nourriture des animaux. Nous ne nous en occuperons pas davantage.

Si la fabrication est bien conduite, le moût obtenu, clarifié par le repos, aura

une densité originelle voisine de 1,063, si on le suppose produit au moyen du malt n° 1. Il renfermera 16,5 p. 100 de matières solides et aura la composition suivante :

Maltose	6,66
Dextrine	3,44
Autres hydrates de carbone fermentescibles	3,30
— — non fermentescibles	1,48
Matières albuminoïdes	1,47
Cendres, phosphates, sulfates	0,17
	16,50

Il y a diverses remarques à faire sur ce tableau. On voit d'abord que le maltose et la dextrine sont assez exactement dans la proportion de deux de maltose pour un de dextrine. L'ensemble de ces deux corps représente environ 61 p. 100 de l'extrait. En admettant, ce qui est conforme au tableau donné plus haut, que le malt n° 1 ait donné 74 p. 100 de matières solubles dans l'eau à 68-70° centigrades, l'amidon formait 59,6 p. 100 de ces matières. C'est presque le nombre que nous trouvons par l'expérience, la différence étant due à l'eau qui entre dans la combinaison, suivant la formule que nous connaissons déjà.

On voit, en outre, que tous les hydrates de carbone du malt sont entrés en solution. Le dernier tableau les distingue seulement en fermentescibles et non fermentescibles.

Enfin, les matériaux albuminoïdes rangés dans les catégories *a*, *b* et *d* de la p. 442 sont, comme on pouvait s'y attendre, entrés aussi en solution.

Cuisson du moût. — Amené par le brassage à la composition que nous venons d'indiquer, le moût ne la conserverait pas longtemps, s'il était abandonné à lui-même. Comme il contient encore de l'amylase, celle-ci modifierait peu à peu les proportions de dextrine et de maltose, et le brasseur dépasserait le but. Aussi faut-il chauffer le moût, soit dans la cuve intermédiaire (*underback*) où on l'entrepose pour lui permettre de déposer, soit en l'amenant directement dans la chaudière de cuisson. C'est pendant cette cuisson qu'on le houblonne. Cette addition de houblon présente plusieurs avantages.

En premier lieu, elle donne au moût une saveur qu'on retrouvera dans la bière, et qui entre dans les éléments constituants de cette boisson.

L'huile essentielle qu'apporte le houblon préserve jusqu'à un certain point la bière contre les ferments qui pourraient tenter de s'y implanter, avant et après l'action de la levure de bière.

Enfin, le houblon apporte aussi un peu de tannin qui, en se combinant avec les matières albuminoïdes du moût, produit un collage assez énergique, et clarifie le moût resté trouble jusque-là.

Cette clarification, du reste, n'est sans doute pas seulement l'effet du tannin. L'expérience a appris aux brasseurs qu'il était bon de faire cuire pendant quelque temps le moût en lui faisant subir une légère ébullition au contact de l'air, comme elle a appris aux ménagères que le bouillon devenait à la fois plus limpide et plus savoureux lorsqu'il bouillait quelques heures à petit feu, assez rapidement pour produire un brassage des couches, et amener la totalité du li-

quide au contact de l'air, pas assez vite pour qu'il en résulte une évaporation trop abondante. Il est probable que, dans un cas comme dans l'autre, il y a une oxydation plus ou moins profonde, modifiant le goût de certains produits, en précipitant certains autres.

Quoi qu'il en soit, la composition du moût change un peu pendant cette cuisson. Une partie des matières albuminoïdes se précipite, le houblon cède des matériaux solubles. Si on analyse, après la cuisson, le moût que nous avons étudié tout à l'heure, en supposant qu'on l'ait ramené à sa densité initiale de 1,063, on lui trouvera la composition suivante :

Maltose	6,66
Dextrine	3,44
Autres hydrates de carbone fermentescibles	3,80
— — non fermentescibles	1,00
Matières albuminoïdes	1,05
Extrait de houblon	0,33
Cendres	0,27
	16,55

On voit, en comparant cette composition à celle du moût avant la cuisson, qu'une portion des matières albuminoïdes a disparu, qu'une partie des hydrates de carbone non fermentescibles est devenue fermentescible, mais le maltose et la dextrine provenant de la transformation de l'amidon n'ont été atteintes ni dans leur poids absolu ni dans leurs proportions.

Arrivée à ce point, la partie purement mécanique des opérations de la brasserie est terminée ; et en faisant fermenter notre moût, nous allons rencontrer devant nous une influence plus délicate et plus complexe, l'action de la levure, que nous étudierons dans le chapitre suivant.

BIBLIOGRAPHIE

O'Sullivan. — Sur les produits de la transformation de l'amidon. *Monit. scient.*, 1874.

W.-G. Valentin. — Mémoire sur la préparation de la dextrine-maltose. *Monit. scient.*, 1875.

O'Sullivan. — De l'action de l'extrait de malt sur l'amidon. *Journal of the chemical Society*, août 1876.

F. Graham. — Leçons sur la fabrication de la bière. *Monit. scient.*, 1875.

E. Southby. — Considérations scientifiques et pratiques sur la fabrication de la bière. *Brewers-Guardian*, 1876, et *Monit. scient.*, 1878.

CHAPITRE XXXIX

FABRICATION DE LA BIÈRE — AÉRATION DU MOUT

Le moût, à sa sortie de la chaudière, doit être refroidi pour être amené à la température de fermentation. Il est pour cela étalé sur des bacs en grande surface et en petite épaisseur, et s'y refroidit par évaporation. On le laissait autrefois sur ces bacs jusqu'à ce qu'il eût atteint la température voulue, ce qui nécessitait quelquefois en été l'emploi d'un courant d'air artificiel, produit par un ventilateur, pour accélérer l'évaporation et le refroidissement. On termine maintenant presque partout l'opération en faisant passer le moût dans des réfrigérateurs de divers modèles, où le refroidissement se fait par l'action d'un courant d'eau à température convenable.

Si nous avons séparé cette opération de celles que nous avons examinées au chapitre précédent, c'est qu'elle est plus intimement liée qu'aucune de celles qui la précèdent à la fermentation que le moût doit subir. Nous allons en effet y voir apparaître ces questions de présence ou d'absence de l'oxygène, dont l'importance longtemps méconnue semble devoir prendre une place de plus en plus grande dans les préoccupations du brasseur. C'est en effet cette présence ou cette absence de l'oxygène que le brasseur poursuit d'une façon trop souvent inconsciente, et qui lui a dicté la plupart de ses pratiques de fabrication.

Mais il est nécessaire, tout d'abord, d'étudier au point de vue purement chimique l'action de l'oxygène sur le moût de bière. Nous n'avons pour cela qu'à suivre un très bon travail de M. Raulin, dont les résultats sont insérés dans le livre de M. Pasteur sur la bière.

Dissolution de l'oxygène dans le moût. — Lorsque du moût de bière est agité à l'air pendant quelques minutes, il se sature des gaz qu'il y rencontre, et on peut rechercher ce qu'il contient alors d'oxygène. M. Raulin a trouvé que, aux diverses pressions, le rapport des quantités d'oxygène dissous dans de l'eau pure et dans le moût est constant, toutes choses égales d'ailleurs. Il ne dépend donc pas de la pression. Il ne varie pas beaucoup avec la température. Il augmente cependant un peu quand la température diminue.

Ce rapport a été trouvé égal à

1,37	à la température de	4°
1,25	—	19°,5
1,20	—	26°

avec un autre moût il était de

1,15	à la température de	9°
1,10	—	21°
1,07	—	25°

La comparaison de ces résultats montre que le rapport varie assez notablement d'un moût à l'autre. M. Raulin a trouvé qu'il augmentait avec la concentration.

En évaporant un même moût à des degrés divers, et en le saturant ensuite d'air à la même température, on a obtenu les nombres suivants pour le rapport que nous étudions :

Moût faible	1,06
Même moût réduit à moitié	1,15
— aux $\frac{2}{5}$	1,27
— aux $\frac{3}{10}$	1,45
— à $\frac{1}{6}$	1,96

Chaque moût semble donc avoir sa faculté d'absorption pour l'oxygène. Toutefois cette variation notable s'atténue dans la pratique, et M. Raulin s'est assuré que des moûts d'origines diverses, à la condition d'avoir même densité et même température, contiennent toujours à très peu près la même quantité d'oxygène, lorsqu'ils en sont saturés. Cela tient à ce que la solubilité de l'oxygène est surtout réglée par la teneur en sucre du moût. Du moins, M. Raulin a-t-il constaté que la solubilité de l'oxygène dans le moût ne diffère pas beaucoup de la solubilité de l'oxygène dans de l'eau sucrée de même densité.

Lorsqu'on ne fait varier la densité des moûts que dans les limites industrielles, leur capacité d'absorption pour l'oxygène varie peu, et oscille, d'après les expériences de M. Raulin, autour d'une valeur moyenne de 1,16. Lorsque la température est de 15°, comme 1 litre d'eau à cette température dissout 6 centimètres cubes d'oxygène, on conclut qu'un litre de moût saturé à la même température en contiendra 5 centimètres cubes environ.

Ce chiffre représente la quantité maximum d'oxygène qui peut entrer en solution dans le moût de bière ; mais dans la pratique il n'est jamais atteint.

Le séjour du moût sur les bacs est de durée variable, mais de six à sept heures en moyenne. Pendant ce séjour, la température moyenne est différente l'été et l'hiver. Pendant cette dernière saison, le contact avec l'air, au voisinage des basses températures, est plus long que pendant l'été. Le moût doit donc prendre plus d'oxygène l'hiver que l'été.

Une autre circonstance se joint à celle du séjour sur les bacs pour augmenter

l'aération des moûts. C'est qu'on les amène en général des bacs dans les cuves à fermentation au moyen de tuyaux à large section, plus ou moins coudés, où le jet s'éparpille, entraîne de l'air et en dissout l'oxygène : le quart environ de l'oxygène que le moût renferme au moment de sa mise en fermentation lui vient de ce barbotage.

Malgré cette double influence, qui semblerait au premier abord devoir assurer l'aération complète du moût, celui-ci ne contient jamais tout l'oxygène qu'il pourrait dissoudre. Il y a même plus.

Une portion du moût des bacs, la plus claire, est mise à fermenter telle quelle. Une autre portion subit au préalable une filtration sur des surfaces de feutre, d'où le liquide s'écoule goutte à goutte en minces filets, à une température en moyenne assez basse. Ce moût filtré renferme plus d'oxygène que le moût non filtré, mais, malgré le contact intime qu'il a eu avec l'air, il n'en est pas saturé.

Si nous appelons degré de saturation d'un moût à une certaine température, le rapport entre la quantité d'oxygène dissoute dans ce moût et celle qu'il contiendrait s'il était saturé, nous trouverons

1° Qu'en été, pour des moûts de densité moyenne, amenés par un appareil réfrigérant à une température de 5°, les degrés de saturation sont voisins des nombres suivants.

Pour les moûts non filtrés.	0,50
Pour les moûts filtrés.	0,80

2° Qu'en hiver, les mêmes moûts, entonnés à la même température de 5°, en sortant des bacs, et sans le secours d'aucun appareil réfrigérant, donnent comme nombres moyens.

Pour les moûts non filtrés.	0,85
Pour les moûts filtrés.	0,95

Il est arrivé quelquefois, dans le cas de températures extérieures très-basses (— 10°), que des moûts filtrés et non filtrés, entonnés en sortant des bacs à 3 ou 4°, ont été trouvés saturés.

En automne et au printemps, on trouve des nombres intermédiaires entre ceux que nous venons d'écrire.

On conclura facilement de ces nombres les volumes d'oxygène dissous dans 1 litre des différents moûts d'été et d'hiver à la température de 5°. L'eau pure dissolvant, à 5° C, 7cc,2 d'oxygène pris dans l'air, en trouvera pour les volumes d'oxygène dissous dans 1 litre des diffrents moûts à 5° C :

	Non filtré.	Filtré.
Moûts d'été.	2cc,9	4cc,7
Moûts d'hiver.	5 ,0	5 ,6

Notons que ces chiffres se rapportent aux moûts pris dans la cuve de fermentation, un peu avant la mise en levain, c'est-à-dire lorsque la quantité d'oxygène dissous est aussi grande que le comportent les manipulations qu'on leur a fait subir.

Oxydation du moût. — Cet oxygène en dissolution dans le moût n'y reste pas à l'état libre; au bout de quelque temps il a servi à des oxydations et il est entré en combinaison. Qu'on sature d'oxygène du moût pris dans la chaudière, et refroidi brusquement; qu'on l'enferme ensuite, pendant douze heures, dans un vase complètement rempli et bien clos : au bout de ce temps, on n'y trouvera plus trace d'oxygène. Cette action commence dès le premier contact de ce gaz et du moût, et c'est probablement à elle qu'il faut attribuer la difficulté, que nous signalions plus haut, d'aérer au maximum un moût dans les manipulations ordinaires de la brasserie. L'oxygène est absorbé par les matières oxydables avec une rapidité comparable à celle de sa dissolution.

Il est important de savoir ce que le moût peut ainsi consommer d'oxygène dans quelques circonstances particulières. On y arrive facilement en exposant au contact d'un volume d'air limité du moût pris bouillant dans la chaudière, et refroidi et éclairci par le repos à l'abri de l'air. Voici quelques nombres empruntés à M. Pasteur :

	Volume d'oxygène absorbé par 1 litre.
Moût conservé 5 jours entre 2° et 4°	17cc,2
Moût conservé 5 jours à 25°	41cc,7
Moût conservé 5 jours à 55°	35cc,2

On voit que ces chiffres sont beaucoup plus grands que ceux qui se rapportent à l'oxygène simplement dissous.

Il est vrai que ce sont des chiffres maximum, correspondant à une longue durée de l'action et au repos du moût. Ils ne nous disent pas quels sont les volumes d'oxygène absorbés dans la pratique, pendant le séjour sur les bacs et jusqu'à la cuve de fermentation. En imitant autant que possible les conditions de température et d'aération qu'on réalise dans une opération industrielle, M. Pasteur a trouvé une absorption de 9cc,5 d'oxygène par litre de moût.

A cette oxydation correspond un phénomène très apparent. Le moût bouillant de la chaudière contient des matériaux en suspension, qui, insolubles à chaud et insolubles à froid, se précipitent les premiers quand le liquide est étendu sur les bacs. Mais si on le débarrasse à chaud de ces matières par une filtration à clair, il ne reste pas limpide quand il se refroidit, et dépose un fin précipité qui le rend laiteux. Si l'air n'intervient pas, ce précipité reste indéfiniment en suspension. Au contact de l'air, au contraire, ces très fines particules flottantes s'agrègent, s'assemblent et se déposent, par un mécanisme probablement analogue à celui du collage.

L'agitation à chaud au contact de l'air semble être plus énergique à ce point de vue que l'agitation à froid, bien que dans le premier cas il se dissolve moins d'oxygène, mais parce que l'oxydation est plus puissante. Si deux portions d'un même moût agitées l'une à chaud, l'autre à froid avec de l'air, sont filtrées après vingt-quatre heures de repos ou même immédiatement, on verra que le moût agité à chaud sera plus coloré, plus brillant, et que l'autre, resté plus trouble, ne deviendra clair qu'après cinq ou six jours passés au contact de l'air. Ceci explique un fait qui se rencontre quelquefois dans la pratique. Du

moût refroidi brusquement ou lentement hors du contact de l'air, ou agité froid au contact de l'air, passera trouble à la filtration, tandis qu'il passera, en général, très limpide après un refroidissement sur les bacs, où il s'est combiné à une certaine quantité d'oxygène.

L'action de l'air sur le moût se traduit enfin par un autre phénomène que la clarification plus facile. Elle est suivie d'un changement de teinte. Le moût, à peine coloré lorsqu'il sort de la chaudière, prend peu à peu une teinte brun-rougeâtre, qui se fonce d'autant plus que l'oxydation est plus énergique. En même temps, le goût se modifie sensiblement. Une partie de la saveur de la bière est très certainement due à l'action de l'oxygène.

Tous les phénomènes que nous venons de passer en revue s'accomplissent concurremment suivant les circonstances de la fabrication. Le brasseur a, comme nous allons le voir, intérêt à les favoriser tous dans une certaine mesure; mais il est utile de montrer de suite qu'il ne doit pas les pousser à l'extrême, et que la question de l'aération du moût n'est pas aussi simple qu'on pourrait se l'imaginer au premier aperçu.

Le moût ne saurait, en effet, être oxydé au delà d'une certaine mesure. Lorsqu'il est bien préparé, « il a un goût et un arôme prononcés de houblon, avec une saveur sucrée, suivie dans l'arrière-gorge d'une grande amertume finale. En le dégustant sous cet état, on se rend compte aisément qu'un pareil liquide, après fermentation, doit constituer une boisson précieuse, aussi saine qu'agréable. Or, tout ce que cette sensation d'ensemble que le moût exerce sur le palais a de vif, d'agréable et de relevé, tant par le parfum du houblon que par l'amertume, disparaît, pour ainsi dire, d'une manière absolue, lorsque le moût est exposé pendant un temps suffisant au contact de l'air, soit à chaud, soit à froid... Le moût se transforme peu à peu par l'effet de l'oxydation en une tisane sucrée, sans odeur, où l'amertume elle-même se trouve détruite ou masquée. En d'autres termes, le moût s'affaiblit ou s'évente, comme s'éventent la bière et le vin, et tous les liquides fermentés, ainsi que tous les moûts naturels et artificiels qui servent à les produire. »

Si donc il est utile que le moût s'aère, il est nuisible qu'il s'aère trop. Ceci est vrai à propos de toutes les oxydations que nous savons s'y accomplir, mais ne l'est pas moins à propos des relations du moût et de la levure, dans l'étude desquelles nous allons entrer maintenant.

Relations de la levure et de l'oxygène du moût. — Ce que nous savons déjà de la levure peut nous faire prévoir que cette levure ne restera pas indifférente à l'égard de l'oxygène contenu dans le moût, mais il est utile de préciser nettement les phénomènes qui se produisent alors.

Le but que le brasseur doit chercher à atteindre est la prise de possession, aussi rapide et aussi complète que possible, du moût par la levure de bière, de façon à transformer en alcool l'élément le plus altérable de ce moût, le sucre, avant que les autres ferments, que le brasseur a le droit d'appeler les faux ferments, n'aient eu le temps de s'implanter dans le milieu. Il arrive à ce résultat par l'addition de levure de bière en proportions convenables. Mais il ne lui servirait de rien d'en ajouter même un grand excès, si le liquide où il l'introduit

ne présentait les éléments favorables de développement, parmi lesquels nous savons que l'oxygène joue le principal rôle. La levure a besoin d'apporter avec elle, ou de trouver dans le milieu où on l'implante, de l'oxygène libre qu'elle utilise pour les premières phases de son développement. Dans un moût non aéré, son développement serait difficile et lent, et, quelles que soient les quantités introduites, elle risquerait d'être supplantée par les faux ferments, s'accommodant mieux qu'elle de la privation d'oxygène.

Une expérience va nous renseigner sur ce qui se passe quand la levure est dans un moût aéré. Un moût de la brasserie Tourtel, mis sur les bacs, de sept heures du soir à quatre heures du matin, a été mis en levain à cinq heures, à une température de 6°, dans une cuve de trente-deux hectolitres, à raison de 100 grammes environ de levure pressée par hectolitre. Son degré de saturation, défini comme nous l'avons dit plus haut, était de 0,545, c'est-à-dire qu'il renfermait environ 312 centimètres cubes d'oxygène par hectolitre.

MM. Calmettes et Grenet ont étudié ensuite, à des intervalles égaux, les degrés de saturation de ce moût mis en levain. Voici les nombres qui représentent les quantités d'oxygène absorbées par la levure dans des temps régulièrement croissants :

	Volume d'oxygène contenu par hectolitre.	Volume d'oxygène absorbé.
	—	—
Mise en levain	312^{cc}	»
Après 1 h. 1/2	232	80^{cc}
Après 3 heures	162	150
Après 4 h. 1/2	110	202
Après 6 heures	75	237
Après 9 heures	46	266
Après 12 heures	0	312

On voit qu'au bout de douze heures après la mise en levain, et à la température de 6°, tout l'oxygène a disparu, absorbé par la levure, rapidement d'abord, plus lentement ensuite. Il est vrai que le moût seul, sans association avec la levure, se serait combiné également avec l'oxygène, mais à 6° et en l'absence de la levure la quantité combinée eût été très faible; c'est donc bien sur la levure que l'oxygène s'est fixé dans l'expérience qui précède. Une expérience en a fourni, du reste, la preuve directe. En mettant dans une autre cuve, pareille à la première, une quantité de levure double, le temps de la désoxydation du moût a été deux fois plus court. Et pourtant, lorsqu'on a constaté la disparition de l'oxygène, c'est à peine si les cellules de levure, qui venaient d'absorber environ $\frac{1}{40}$ de leur poids d'oxygène, avaient commencé à se multiplier. Elles avaient pris un aspect plus jeune et plus turgescent qu'au début, mais elles ne portaient pas encore de bourgeons visibles. Nouvelle preuve de ce que nous avons déjà dit dans l'étude de la levure, que l'oxygène s'emmagasine dans les cellules et se fixe sur leurs principes oxydables, pour être mis en œuvre ultérieurement, ou pour leur donner un élan de vie et de nutrition qui s'étend ensuite à plusieurs générations successives de cellules.

La levure ne borne pas son action absorbante à l'oxygène simplement dis-

sous; il est facile de montrer qu'elle consomme aussi à son profit une portion de l'oxygène combiné. Nous avons vu plus haut que les moûts s'oxydent et se colorent au contact de l'air. Or, cette coloration disparaît en grande partie pendant la fermentation; une partie au moins des matières oxydables qui ont emmagasiné ce gaz le cède à la levure, dont nous savons au reste la puissance d'absorption sous ce point de vue. Ce qui prouve bien qu'il en est ainsi, c'est que du moût ensemencé de levure, dans des vases qu'il remplit complètement, et après un temps suffisant pour que l'oxygène qu'il a absorbé à l'état dissous ait passé à l'état combiné, fermente mieux que du moût ne contenant ni air dissous ni air combiné.

Toutefois, l'oxygène combiné ne saurait remplacer totalement l'oxygène dissous. De la levure de bière un peu vieille, ensemencée à l'abri de l'air dans un moût ne contenant que de l'oxygène combiné, ne s'est pas développée; mais la fermentation a commencé et s'est continuée dans des conditions excellentes aussitôt qu'on eût introduit quelques bulles d'air. L'oxygène libre ou dissous semble donc nécessaire pour rajeunir la levure, et une fois mise en train, celle-ci peut vivre aussi aux dépens de l'oxygène combiné. C'est, comme on voit, la conclusion que nous avons rencontrée à la fin de notre étude sur le mécanisme de la fermentation; seulement, au lieu de l'appliquer au sucre, nous l'appliquons à des matières cédant plus facilement leur oxygène que lui. Mais, en somme, l'idée est toujours la même.

L'oxygène du moût une fois absorbé, la levure continue à vivre, à bourgeonner et à se reproduire, en même temps que la fermentation suit son cours. Mais la vie de la levure devient d'autant plus difficile, et la fermentation d'autant moins active, que l'on s'éloigne davantage du moment où a eu lieu le contact de l'air. Le mouvement incessant que communique au liquide le dégagement gazeux dont il est le siège, en amenant à la surface des couches sans cesse renouvelées, permet, si on n'opère pas en cuves couvertes, une aération qui maintient le phénomène en bonne voie. Mais cette aération est toujours insuffisante. La preuve peut en être donnée facilement en répétant sur du moût en fermentation une expérience dont nous avons déjà dit un mot.

Si, une fermentation étant en marche dans des conditions normales, on soutire, même rapidement, le liquide pour le reverser aussitôt dans la cuve, on s'aperçoit, au bout d'une heure au plus, d'un accroissement marqué dans la fermentation, accusé par un dégagement plus abondant d'acide carbonique. Les circonstances mêmes dans lesquelles se fait cette opération ne sont nullement indifférentes. Le diamètre du jet qui sort de la cuve, la hauteur d'où il tombe, l'éparpillement plus ou moins grand qu'il subit dans sa chute et au fond du baquet, tout influe sur le résultat. Nous constaterons des faits analogues à propos du vin. Enfin, comme nous avons le droit de nous y attendre, « des modifications correspondantes ont lieu dans les cellules de levure qui ont subi le contact de l'air. Elles deviennent plus fermes d'aspect et de contour, leur plasma intérieur est plus nourri, plus jeune, plus translucide, moins vacuolaire. Les granulations moléculaires sont moins visibles. Pour un certain foyer du microscope, elles disparaissent; pour un autre, au lieu d'apparaître en points noirs, elles deviennent comme des points brillants à peine sensibles.

le bourgeonnement recommence s'il était suspendu; enfin, tout concourt à prouver, et quand on a la levure sous les yeux, on en est persuadé mieux qu'on ne peut le dire, que la vie des cellules est plus accentuée, que le travail de nutrition est plus actif après qu'elles ont subi le contact de l'oxygène de l'air et qu'elles ont absorbé ce gaz en plus ou moins grande quantité. »

Une aération même rapide est donc un moyen sûr de ranimer une fermentation qui s'est ralentie, lorsqu'il reste encore du sucre à décomposer. Nous allons voir que dans la pratique des brasseries on a utilisé depuis longtemps, d'une façon malheureusement inconsciente, cette influence vivifiante de l'air, comme aussi tous les autres phénomènes physiques et chimiques que nous venons d'exposer.

Pratique de l'aération des moûts et des bières. — Pour bien nous rendre compte de ce qui se passe dans la pratique, demandons-nous, en partant des notions que nous venons d'acquérir, quelles doivent être les préoccupations successives du brasseur, aussitôt faite la mise en levain, et quelles sont les conditions auxquelles doit satisfaire une fabrication marchant régulièrement.

Nous savons déjà que le brasseur doit assurer tout d'abord la prise de possession aussi complète et aussi rapide que possible du moût par les cellules du ferment. Ceci dépend de deux choses : du choix de la levure d'abord, de l'aétion du moût ensuite.

Dans le choix de la levure entrent les questions de pureté et de provenance, que nous laissons de côté pour le moment, entre aussi la question d'aération de cette levure, que l'on favorise dans quelques brasseries par le procédé suivant. On transvase plusieurs fois de suite, d'un baquet dans un autre, en le versant d'une certaine hauteur, le mélange épais de bière et de levure qu'on va verser dans la cuve de fermentation, de façon à ce qu'il soit aussi mousseux et aussi imprégné d'air que possible. Nous verrons au chapitre suivant que d'autres pratiques différentes, séculaires dans certaines fabrications, n'ont probablement d'autre raison d'être que de conduire au même résultat.

Pour l'aération des moûts, elle est à peu près assurée par la pratique du refroidissement sur les bacs. Là où on n'emploie pas ces appareils, et où on refroidit le moût à l'aide de réfrigérants, une aération préalable du moût est nécessaire avant la mise en levain. Elle se réalise quelquefois sans que le brasseur en ait conscience, par circulation dans des tuyaux, chute de haut dans la cuve de fermentation, etc., mais elle est indispensable et la fermentation ne débute bien que lorsque l'aération est assurée.

Pendant cette fermentation, à raison de l'aération du liquide et de sa puissance nutritive, la levure se reproduit beaucoup. Comme le consommateur exige des bières limpides, il faut la supprimer ou au moins la diminuer beaucoup, en donnant à celle qu'on laisse le caractère de *levure de fond*, n'ayant pas subi depuis longtemps le contact de l'oxygène, et par suite moins apte qu'une autre à dégager de l'acide carbonique, et à s'élever avec ce gaz dans la masse du liquide pour en troubler la limpidité.

Le meilleur moyen pour cela, avec un liquide moins altérable, serait de laisser

tomber tout à fait la fermentation, de façon à laisser la levure se tasser au fond de la cuve et y former une masse compacte. Mais il est peu de brasseurs qui n'aient appris, à leurs dépens, combien cette pratique est imprudente. Le champ abandonné par les cellules de levure est aussitôt pris par les faux ferments, l'absence d'acide carbonique à la surface du liquide permet un commencement d'acétification. De plus, comme il faut, à un certain moment, soutirer la bière de la cuve à fermentation pour la livrer à la consommation, si on attendait qu'il n'y ait plus de sucre, le soutirage lui ferait perdre de son acide carbonique, qui ne serait pas remplacé. Or, ce gaz entre comme élément constituant important dans le goût du produit; quand il manque, la bière est plate. Sa présence et son dégagement continu dans toutes les bières commerciales protègent d'ailleurs ces liquides contre l'accès de l'air et les empêchent de s'éventer.

Aussi le brasseur s'ingénie à débarrasser le mieux possible son liquide de la partie de la levure la plus active, celle qui s'élève et descend constamment dans la masse. Il emploie pour cela divers moyens que nous apprendrons bientôt à connaître; mais il est obligé de soutirer sa bière avant qu'elle ne soit claire et qu'elle n'ait perdu tout le sucre qu'elle contenait primitivement.

De quelque façon que se fasse ce soutirage, et à moins qu'il ne s'accomplisse tout à fait à l'abri de l'air, et dans des conditions auxquelles il ne faut pas songer dans la grande pratique, son inévitable effet est de provoquer un recommencement de fermentation à l'aide des cellules de levure que le moût a emportées avec lui, et qui, étant en plus petit nombre dans un liquide plus pauvre en sucre, mettront, à faire disparaître les dernières portions de ce produit, un temps suffisant pour que la bière puisse arriver au consommateur. Elle lui arrivera plus ou moins claire, plus ou moins terminée, suivant la marche de la fabrication, les soins dont elle a été l'objet, l'état de la température; mais à moins qu'il ne s'agisse de bières de garde, comme les bières blanches qu'on conserve à l'aide du froid, ou comme ces belles bières anglaises qui sont presque des vins, elle devra être consommée dans le délai marqué par la disparition complète de son sucre, parce qu'au delà elle ne peut que décliner.

On devine de suite quelle boîte à surprises doit être la fabrication d'un produit sur la bonne qualité et la bonne tenue duquel tout a de l'influence ; et, ici, je ne parle pas de la nature des eaux, de l'orge et du houblon, dont le brasseur peut, s'il le veut, se rendre maître, ni même de circonstances capitales dont il ne pourrait se rendre compte que par le microscope qu'il n'emploie pas, telles, par exemple, que la pureté plus ou moins grande, l'état de jeunesse ou de vieillesse du levain employé. Je laisse même de côté les phénomènes dont l'expérience lui a montré en gros l'influence, tels que l'action de la température. Je ne parle que de faits sur lesquels son attention ne s'est presque jamais portée, les proportions de maltose et de dextrine pendant le brassage, l'influence du temps sur la profondeur des transformations amenées par la diastase, le rôle de l'aération du moût ou de la levure, l'action funeste ou favorable d'une opération aussi inoffensive en apparence qu'un transvasement ou un soutirage opéré à l'air, ou se faisant dans des tuyaux plus ou moins larges et plus ou moins longs. Toutes ces influences, les brasseurs les éprouvent sans s'en rendre compte. Les plus habiles finissent par plier leur fabrication aux nécessités de

leur local, ou aux exigences de leur personnel, mais c'est toujours en tâtonnant beaucoup, et en restant désarmés contre tout incident qui interrompt le cours empirique des choses.

Nous ne pouvons mieux prendre une idée du désarroi qui règne dans une brasserie, aussitôt que *quelque chose ne marche pas*, qu'en examinant de combien de causes d'erreur et d'incertitude est encore frappé le seul moyen qu'aient les brasseurs pour se renseigner sur la marche générale de leur industrie ; je veux parler de *l'atténuation*.

Atténuation. — On appelle de ce mot la diminution de densité que subit un moût par suite de la transformation de son maltose en alcool.

Pour l'évaluer, on prend d'abord la densité du moût à une température déterminée ; cela se fait à l'aide de divers instruments, généralement à graduation empirique, et dont les indications n'ont d'ordinaire aucune relation avec la densité du liquide. Comme nous n'avons pas pour objet d'apprendre à connaître ces instruments, (dont les plus répandus sont les aréomètres de Balling et de Brix, en Allemagne, et en Angleterre, celui de Bate qui donne directement la densité, et celui de Richardson, dont la graduation est empirique), nous supposerons que la densité soit évaluée dans le système décimal ; elle sera, par exemple, de 1,063.

L'excédant de la densité du moût sur celle de l'eau est dû aux matières en solution, parmi lesquelles il n'y a guère que le maltose qui disparaisse pendant la fermentation, pour faire place à de l'alcool. On pourra donc avoir une idée de la quantité de maltose disparue, si on cherche de combien a décru la densité réelle du liquide, c'est-à-dire celle qu'aurait le liquide si on en chassait l'alcool par l'ébullition pour le remplacer par une quantité égale d'eau. Il est évident, en effet, que, de la diminution survenue, on peut conclure empiriquement à la quantité de maltose détruite, et, par conséquent, à l'état plus ou moins avancé de la fermentation.

Au lieu de chasser l'alcool par ébullition pour le remplacer par l'eau, on peut distiller le liquide, recueillir l'alcool, le ramener au volume primitif et prendre la densité du mélange. En admettant alors, ce qui est suffisamment vrai, que la diminution de densité que l'alcool produit dans la bière est la même que celle qu'il produit dans l'eau, on peut, connaissant la densité de la bière et celle du liquide alcoolique qu'on en a tiré, savoir ce que serait cette densité si on l'avait prise en l'absence de l'alcool.

Par exemple, dans le cas où nous nous sommes placés plus haut, et qui n'est pas fictif, étant celui de la bonne fabrication de la *pale ale*, on trouve que la densité de la bière finie est de 1,021, et que la densité de l'alcool est de 0,992. On dira que la densité de la bière sans alcool s'élèverait à $1{,}029 = 1{,}021 + 0{,}008$. Et si on appelle degrés d'atténuation les unités décimales du dernier ordre, on dira que le moût de *pale ale* doit subir une atténuation de $1{,}063 - 1{,}029 = 34$ degrés.

Il est bien entendu que ce chiffre est variable suivant le mode de graduation du densimètre employé ; mais quel qu'il soit, on voit qu'il peut fournir au brasseur un moyen rapide et facile de savoir où en est et comment marche sa fermentation. Aussi l'introduction de l'aréomètre dans les brasseries a-t-elle été un

véritable bienfait ; et pour beaucoup d'industriels, la grosse, presque la seule préoccupation, est d'obtenir une atténuation de tant de degrés avec un moût ayant une densité originaire, ou, comme le disent les Anglais, une gravité primitive de tant. Voyons pourtant ce que l'emploi de cet instrument, lorsqu'il est employé seul, comporte d'erreurs et surtout d'incertitudes.

La densité originaire du moût dépend exclusivement, lorsque la drêche a été bien épuisée, de la quantité de malt et de la quantité d'eau mises en contact. Mais à des densités égales ne correspondent pas, nous le savons, des compositions identiques, parce que le rapport de la dextrine au maltose peut varier à l'insu du brasseur dans d'assez larges proportions. Or, l'atténuation dépend uniquement du maltose. S'il y en a peu, l'atténuation maximum qu'on peut obtenir est trop faible ; s'il y en a trop, elle est trop forte : la bière manque de bouche et tourne à la liqueur. Ici, la racine du mal est dans l'opération du brassage, mais peu de brasseurs vont la chercher jusque-là, parce que l'instrument dont ils se servent leur dit qu'il y a eu une faute commise sans leur dire où et comment.

Leur tendance instinctive, quand ils rencontrent de pareilles difficultés, est d'accuser la levure dont ils changent la nature ou les proportions, quelque convenables qu'elles puissent être, ce qui les engage dans une nouvelle série de tâtonnements.

Par contre, il arrive quelquefois que le densimètre permet de croire que tout va bien, alors qu'il y a un défaut grave. Ce sont les cas fréquents où une atténuation convenable coïncide avec le ralentissement de la fermentation, dû, non à ce que le sucre se fait rare, mais à ce que l'aération de la levure et du liquide a épuisé son effet. Dans ce cas, le brasseur entonne de confiance, mais le soutirage réveille la fermentation endormie, et la bière subit, soit dans les tonnelets destinés à la vente, soit même dans les bouteilles, une fermentation complémentaire qui la trouble, l'atténue outre mesure et en déprécie la valeur.

Ces deux exemples suffisent à montrer que l'atténuation n'est pas tout dans la brasserie, et que tout en pouvant servir quelquefois de guide au brasseur, elle ne l'empêche pas de vivre dans l'obscurité sur les faits principaux de son industrie, et de tâtonner dans le noir lorsqu'il a perdu sa voie. Il est utile de montrer en échange quel moyen précieux d'investigation elle pourrait fournir, si elle était appliquée, en connaissance de cause, à l'étude d'une bière quelconque.

Nous prendrons comme exemple la bière de *pale ale*, à laquelle se rapportent les chiffres d'atténuation donnés plus haut, et qui est aussi celle dont le malt et le moût ont été analysés au chapitre précédent.

Une densité originaire de 1,063 correspond, comme nous l'avons vu, chez le moût de cette bière, à une teneur de 16,5 p. 100 de matières solides. Sur ce poids de 16gr,5, 10gr,4, soit 64 p. 100 environ, sont des sucres fermentescibles.

La bière faite, après avoir subi une atténuation de 34°, avait une densité de 1,029, à laquelle correspondent, avec la même loi de proportionnalité que plus haut, 7,6 p. 100 de matières solubles. La fermentation a donc enlevé 8,9 p. 100 de sucres fermentescibles, soit 54 p. 100 de l'extrait. Il doit donc rester, dans

l'extrait de cette bière, 10 p. 100 environ de sucre pour entretenir, par sa transformation lente et graduelle, la fermentation en bouteilles.

Voilà évidemment un renseignement de la plus haute importance pour le brasseur; et à la condition qu'il soit sûr de la proportion des matériaux fermentescibles et non fermentescibles produits par le brassage, il pourra être averti, par l'étude de l'atténuation, du moment favorable pour soutirer la bière de la cuve de fermentation. L'expérience dans ce cas particulier, bien étudié par M. O'Sullivan, est en parfait accord avec les indications du densimètre. Voici, en effet, les résultats de l'analyse de la bière obtenue avec les malts et les moûts étudiés plus haut. L'ensemble de ces analyses faites par un chimiste très habile, par des méthodes sûres, et se rapportant à un même produit, peut être considéré comme fournissant un type parfait pour l'étude d'une bière et d'une opération industrielle, et il serait utile qu'il y ait beaucoup de fabrications aussi bien connues que l'est celle de la *pale ale* à la suite des travaux que nous avons résumés.

Voici la composition de l'ale de Burton, lorsque la fermentation principale est terminée et que la bière est prête à être mise en tonneau :

	Matières solides dans 100 parties.
Alcool, 4,48 p. 100.	
Maltose	1,52
Dextrine	3,44
Hydrates de carbone fermentescibles	traces
— non fermentescibles	1,00
Matières albuminoïdes	0,66
Extrait de houblon	0,33
Produits non volatils de la fermentation	0,47
Cendres	0,24
	7,66

En comparant cette analyse à celle du moût, on voit d'abord qu'il y a eu 4,48 p. 100 d'alcool produit pour 8,9 de sucre maltose disparu. C'est à peu près la proportion voulue.

On voit que la dextrine est restée intacte, tellement qu'il y a lieu de se demander si elle peut être atteinte par la fermentation. Les expériences de M. Barfoed ont montré que de la dextrine, parfaitement purifiée de toute trace de glucose, pouvait, mise en contact d'une quantité notable de levure, donner de l'acide carbonique, et toutes les apparences extérieures d'une fermentation. Mais en laissant de côté toute objection relative à la présence, dans ces expériences, de ferments étrangers à la levure, contre lesquels M. Barfoed ne s'est pas mis en garde, et en acceptant, par suite, comme une vérité démontrée, que la dextrine puisse fermenter, il n'en faudrait pas conclure qu'elle fermente dans les bières d'une façon sensible, même lorsque toute matière sucrée en a disparu. J'ai trouvé encore de la dextrine dans des bières vieilles de sept ans, où la levure, restée pure, était morte avec le temps, et il ne semble pas, par suite, que cette matière hydrocarbonée soit un aliment convenable pour elle.

Les matières albuminoïdes ont éprouvé, dans la bière analysée plus haut, une

faible variation, qui tient à ce qu'une portion en a été absorbée par les globules nouveaux de la levure qui se sont formés. Par contre, ces mêmes cellules ont laissé se dissoudre une portion de leurs matériaux albuminoïdes, de sorte que non seulement la proportion, mais encore la nature de ces substances a changé du moût dans la bière.

Il faut noter, en terminant, que la bière que nous venons d'étudier est analysée à la sortie de la cuve de fermentation, et que son atténuation aurait été encore plus grande au moment où elle est prête à entrer dans la consommation. A ce moment, ce qu'elle renferme encore de maltose a à peu près complètement disparu, la proportion d'alcool se serait élevée à 5,2 environ, et le poids total de matériaux solides serait tombé de 7,6 à 6 p. 100 environ.

Caractéristique des diverses bières. — Ce fait est commun à presque toutes les bières consommées loin des centres de production et qui font l'objet d'un commerce national et même international. Quand elles arrivent au consommateur, elles ne renferment presque plus de sucre. On peut tirer de ce fait une considération importante.

La proportion centésimale d'alcool qu'elles renferment dépend évidemment, toutes choses égales d'ailleurs, de la proportion de malt employée dans leur fabrication, et les bières les plus fortes seront, en général, obtenues avec les infusions de malt les plus concentrées. A ce point de vue, la teneur alcoolique d'une bière est un des éléments qui serviront le mieux à la caractériser.

Mais pour des proportions de malt égales, la quantité de maltose obtenue, et, par suite, celle de l'alcool ne seront pas identiques et dépendront de la façon dont a été conduit le travail du brassage. Si on voulait résumer, dans un chiffre unique, le résultat de toutes les opérations d'une brasserie antérieures à la mise en levain, on ne saurait trouver mieux que le rapport entre la quantité de maltose et de dextrine, ou bien encore le rapport entre le volume de l'alcool et le poids de dextrine, rapport qui est évidemment, d'après ce que nous avons vu, proportionnel au premier.

Ce rapport de l'alcool à la dextrine, difficile à déterminer par une expérience simple, peut, à son tour, être remplacé par le rapport de l'alcool au poids total de l'extrait, car le poids des matières albuminoïdes et autres qui viennent s'ajouter à la dextrine pour former l'extrait croît d'une façon à peu près proportionnelle au poids de la dextrine. Or, il y a, à envisager ce dernier rapport, l'avantage qu'il se trouve tout déterminé par l'opération, familière aux brasseurs, qui leur donne l'atténuation mesurée comme nous l'avons dit plus haut.

Par exemple, la bière que nous venons d'analyser renfermant 5,2 p. 100 d'alcool, et 6 p. 100 de matières solubles, le rapport en question serait pour elle représenté par $\frac{5,2}{6} = 0,85$. Inversement, ce chiffre témoigne que, pour cette bière, la proportion de la maltose à la dextrine a été très élevée par l'opération du brassage.

Les bières anglaises présentent, en général, des rapports voisins de celui qui précède et même plus élevés. Voici ceux que l'on peut conclure de quelques analyses faites par M. A. Girard :

	Alcool p. 100.	Rapport.
Pale ale	6,50	1,26
Sparkling ale	7,25	0,96
Extra stout	9,00	1,06

Si nous passons maintenant aux bières allemandes, fabriquées par la méthode dite de décoction, qui donne, comme nous l'avons vu, des proportions à peu près égales d'alcool et de dextrine, nous pouvons nous attendre à voir baisser le chiffre du rapport. Voici quelques-unes de ces valeurs déduites des chiffres de M. A. Girard :

Bières autrichiennes.	Alcool p. 100.	Rapport.
Lager bier	4,0	0,57
Export bier	4,5	0,57
Bières bavaroises.		
Nuremberg	4,6	0,68
Munich	4,3	0,65

Voici enfin quelques résultats relatifs à deux des bières belges les plus recherchées :

	Alcool p. 100.	Rapport.
Lambick de Bruxelles	5,8	1,6
Faro de Bruxelles	4,9	1,3

Il semble donc, à la fois d'après ces exemples et d'après la signification théorique des rapports calculés, que ces rapports servent mieux à caractériser une bière qu'un autre nombre quelconque, par exemple, que le chiffre de l'extrait, qui varie beaucoup dans deux fabrications identiques, ou même celui de l'alcool qui est dans le même cas. Cependant comme l'alcool a une valeur propre, la connaissance de sa proportion ne saurait être négligée. Mais le rapport de l'alcool à l'extrait résumera mieux que tout autre tout ce qui est relatif au travail du brassage, et c'est ce qui m'engage à le proposer.

BIBLIOGRAPHIE

PASTEUR. — *Études sur la bière*, Paris, 1876.

O'SULLIVAN. — Sur les produits de la transformation de l'amidon. *Moniteur scient.*, 1874.

A. GIRARD. — Fabrication de la bière. *Rapport de la Commission française à l'exposition de Vienne*, 1875.

J. GRAHAM. — Leçons sur la fabrication de la bière considérée au point de vue chimique. *Monit. scient.*, 1875.

BARFOED. — Recherches sur la fermentation de la dextrine. *Monit. scient.*, 1878.

CHAPITRE XL

FABRICATION DE LA BIÈRE. — FERMENTATION ET SOUTIRAGE

Les divers systèmes employés pour la fabrication de la bière diffèrent entre eux, quand on les examine sous le rapport de leurs conditions physiques de mise en œuvre, par les températures adoptées, et les modes de traitement appliqués au liquide dans ses diverses phases de transformation. A ces variations dans le traitement correspondent des variations dans l'outillage dont nous ne nous occuperons pas, n'ayant pour objet que d'examiner ce que chacune des pratiques usuelles renferme d'essentiel, et comment elle concourt au résultat général.

Nous étudierons d'abord, parmi les bières à fermentation haute, celle qui peut être considérée comme la plus parfaite, celle des bières pâles de Burton, auxquelles appartient celle que nous avons envisagée dans les chapitres précédents.

Procédés de Burton. — Le moût, contenu dans des cuves G (fig. 69) de très grande dimension, est mis en levain à une température qui est voisine de 13°,5 dans la saison chaude, et de 15°,5 dans la bonne saison fraîche de fabrication. A mesure que la fermentation se développe, cette température initiale s'élève, et cela a lieu avec une telle régularité, grâce au volume de la masse liquide, qu'à des variations thermométriques égales correspondent des diminutions d'un même nombre de degrés d'atténuation.

Dans la saison fraîche, la levure aura à peu près terminé son action et sera prête à se montrer à la surface quand la température sera de 21° centigrades. Dans aucun cas on ne laisse le thermomètre s'élever au-dessus de ce degré, sauf pour les bières très fortes, pour lesquelles on admet la limite de 24°, mais on ne se hasarde jamais à les fabriquer que dans la saison froide. Pour toutes les autres, lorsqu'on est voisin de 21°, et que l'atténuation est du reste convenable, ce qui ne manque pas d'arriver lorsque l'opération est bien conduite, on décante immédiatement la bière, pour l'éclaircir, dans des vaisseaux plus petits, dont la surface est plus grande par rapport au volume, et où on est plus maître de l'action de la température, quand on les maintient dans une atmosphère de 7 à 10°.

Ces petits vaisseaux sont des barils U, fig. 69, suspendus suivant leurs axes,

et communiquant les uns avec les autres. On les remplit tous en même temps au moyen de tuyaux, et on y maintient le niveau constant à l'aide d'un petit ré-

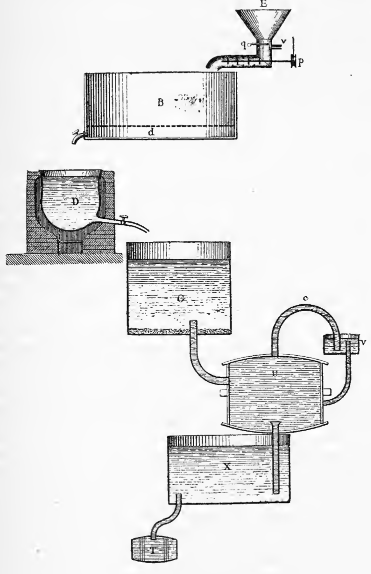


Fig. 69. — *Schéma de la méthode par infusion, à Burton-on-Trent.*

E mélangeur.
q valve du malt.
v arrivée de l'eau.
p poulie de transmission faisant tourner l'axe à ailettes.
B cuve matière.
d double fond.
D chaudière de cuisson.
G cuve à fermentation.
U union, tonneau d'éclaircissement.
C col de cygno.
V bac à levure et trop-plein.
X bac de repos.
T tonneau d'expédition.

servoir, placé à l'extrémité de l'atelier, et où on met de la bière faite. A raison de leurs dispositions, ces petits barils portent le nom d'*unions*.

Chacun d'eux est muni, à sa partie supérieure, d'un tuyau recourbé en col de cygne par où monte et s'élimine peu à peu la levure, mise en suspension par la fermentation réveillée par le soutirage. Tous ces cols de cygne débouchent dans un même auget où la levure est poussée, reçue dans un récipient pour être séparée ensuite du liquide surnageant et être envoyée à la presse. Grâce à ce départ continu de la partie de la levure la plus active, grâce à l'ouillage continu qui maintient le niveau constant, les conditions de déversement identiques, supprime l'arrivée de l'air, et permet d'éviter tous les mouvements de masse dans la bière, la clarification se fait sans qu'il reste dans l'*union* une portion sensible de levure de fond, capable de compromettre plus tard la bonne tenue de la bière. Cette préoccupation d'éliminer la levure de fond est constante à chacun des transvasements, et on y arrive en puisant dans chaque cas au-dessus du fond, comme le représente la figure.

Pourtant, comme il en reste toujours une certaine quantité[1], il faut, avant d'enfermer la bière dans les tout petits barils qui iront chez le consommateur, la décanter dans un bac de repos X, où elle dépose ce qu'elle pourrait encore contenir de cellules en suspension. Mais cette décantation doit se faire sans trop réveiller la fermentation, qui trouverait encore de l'aliment dans le sucre qui reste. Il faut donc aérer aussi peu que possible. L'emploi d'une pompe ne serait pas sans inconvénients. Il faut amener tout doucement la bière dans le fond des bacs reposoirs, d'où on la soutire pour la livrer à la consommation.

Ce dernier soutirage lui-même demande quelques précautions. Il ne doit pas être fait à une température trop élevée, de peur que, la bière se refroidissant ensuite, il n'y ait, dans le tonneau qui la contient, une rentrée d'air qui la rendrait plate. Il pourrait d'ailleurs se faire que ce refroidissement, survenant alors, n'arrêtât la fermentation lente mais continue, dont toute bière bien fabriquée doit nécessairement être le siège. Il faut donc que, dans le bac reposoir, la bière soit à quelques degrés au-dessous de la température ambiante. La conservation n'en est du reste que plus assurée.

Il est bon aussi, avant de procéder au soutirage, de savoir si la bière doit être livrée aussitôt à la consommation, ou bien emmagasinée quelque temps. Dans le premier cas, on pourra et on devra y laisser une plus forte proportion de cellules en suspension que dans l'autre, pour que la bière se sursature plus rapidement d'acide carbonique et donne une belle mousse chez le consommateur. On devra faire la même chose si on livre la bière en demi-barils, où les pertes du gaz sont plus faciles et doivent être compensées par une plus forte activité dans la production. C'est seulement l'expérience qui peut indiquer dans chaque cas le moment convenable du soutirage. On admet pourtant que, lorsque la fermentation n'a rien laissé à désirer, il suffit de vingt-quatre heures de séjour dans le bac de repos pour la bière livrée en demi-barils, et destinée à être consommée de suite. Pour les barils et les vases plus grands, il faut laisser s'écouler au moins quarante-huit heures pour que la bière soit assez claire pour le soutirage; et si la bière est destinée à être conservée en magasin ou mise en bouteilles, il est nécessaire de lui laisser déposer dans le bac tous ses éléments

en suspension et de ne la soutirer que lorsque, examinée dans un verre à pied conique, elle est parfaitement claire et brillante.

Bières autrichiennes. — Tout autres sont les procédés qui servent à la fabrication des bières autrichiennes, et en général des bières allemandes. Ici, on opère à une température très basse, très défavorable au développement des faux ferments. La levure employée, celle que nous connaissons déjà sous le nom de levure basse, s'en accommode au contraire sans trop de difficulté. La transformation complète du sucre est, en revanche, plus longue, et peut même quelquefois durer pendant des mois. Cette circonstance conduit à son tour à fabriquer des bières peu alcooliques; et, par une répercussion tout à fait naturelle, ces bières faibles doivent toujours être maintenues à basse température, et ont besoin d'être accompagnées jusque chez le consommateur par une enveloppe de glace. Elles sont donc beaucoup moins solides, beaucoup moins résistantes aux voyages et à la vieillesse que les bières anglaises, et leur commerce international rencontre, de ce chef, de grandes difficultés. Mais elles rachètent ces défauts par une finesse de goût que les bières anglaises ne possèdent jamais. La faiblesse de leur titre alcoolique permet d'en boire beaucoup sans inconvénients. Leur amertume, faible, parce qu'elles sont peu houblonnées, mais encore sensible, en fait des boissons désaltérantes de premier ordre. Aussi leur consommation s'étend-elle sur le continent, sans gagner sensiblement de terrain en Angleterre, où l'on demande surtout à la bière d'être une boisson de table et un aliment.

La fermentation de ces bières autrichiennes se fait dans des cuves moins grandes qu'en Angleterre, rangées dans un sous-sol peu aéré, autour duquel on a accumulé d'énormes quantités de glace, de façon à maintenir sa température au voisinage de 0°. Le moût, refroidi d'abord sur les bacs, puis dans un réfrigérant G, fig. 68, parcouru par de l'eau glacée, est mis en levain à une température constante qui ne varie jamais de plus de 1° dans la même brasserie. Les bières de garde sont ensemencées entre 4 et 5°. Pour les bières destinées à une consommation plus prompte, on s'élève à 8 ou 9°.

Le mode d'ensemencement n'est pas sans importance. Le levure basse ne peut pas, comme l'autre, venir périodiquement, pour ainsi dire, s'aérer à la surface. D'ailleurs, les cuves sont, en général, couvertes et même quelquefois, comme nous le verrons, exactement closes. La levure n'a donc à sa disposition que l'oxygène contenu originairement dans le moût, et lorsque celui-ci a été introduit, encore un peu chaud, dans les refroidissoirs à eau glacée, il peut n'avoir dissous qu'une faible proportion d'air. Aussi a-t-on trouvé utile, dans quelques brasseries, de modifier la pratique de l'ensemencement de la façon suivante : au lieu de mélanger la levure avec un peu de moût qu'on mêle aussitôt au reste du brassin, on ajoute la levure à une partie du moût, et on laisse la fermentation se déclarer franchement dans la masse, qui est, ou bien laissée à l'air, ou bien enfermée dans un vase spacieux, ce qui revient à peu près au même. Puis, quand la fermentation est bien en train, on mélange au reste du liquide. On y gagne une aération plus complète de la levure, puisqu'elle est en quelque sorte aérée deux fois. On y gagne aussi de pouvoir diminuer la proportion de

levure employée. Nous verrons en effet bientôt que, dans le procédé que nous décrivons, il est moins facile de trouver de la levure de semence que dans le procédé anglais.

La température étant basse dans la cuve où se fait la fermentation, les premières portions d'acide carbonique produit sont absorbées en totalité. Ce n'est qu'au bout d'une douzaine d'heures qu'on en voit apparaître quelques bulles à la surface; au bout de vingt-quatre ou trente-six heures, il y a un peu d'écume moutonnée. Ce sont les *kreissen*. On les considère comme les indices d'une bonne fabrication. Douze à quinze heures plus tard, on voit apparaître une mousse colorée en brun par les matières résineuses du moût, et renfermant le peu de levure haute que toute levure basse renferme quand elle est prise dans une opération industrielle. On sépare cette écume superficielle avec le plus grand soin. Elle ne doit pas se reformer, et la fermentation continue, régulière et silencieuse, la levure basse formant dépôt. Quand tout marche bien, on voit, en écartant la mousse à la surface au moyen du souffle, apparaître au-dessous un liquide noir ou foncé. Un liquide rougeâtre caractérise une mauvaise fermentation.

Cette première phase du phénomène dure dix, douze, quinze ou vingt jours; elle peut même être plus longue si on fabrique des bières fortes. L'atténuation, au bout de ce temps, atteint environ la moitié de la densité originelle du moût. Elle est donc comme il fallait s'y attendre, poussée un peu moins loin qu'en Angleterre, où nous l'avons vue atteindre les $\frac{6}{10}$.

Malgré sa lenteur, et le volume relativement faible des cuves, la fermentation s'accompagne d'un dégagement de chaleur qui ferait monter la température du liquide. On combat cet échauffement en introduisant dans chaque cuve, après l'apparition des *kreissen*, un nageur rempli de glace. C'est généralement un cylindre en cuivre étamé, à bords évasés, et à surface cannelée, de façon à multiplier les contacts. Ce cylindre flotte, tenu constamment en mouvement par le dégagement gazeux du liquide qui le soutient, et maintient partout la température au degré voulu.

Quand cette fermentation principale est terminée, la bière est soutirée dans de grands foudres K, où elle doit s'éclaircir et subir sa fermentation complémentaire, qu'on cherche à produire à une température encore plus basse que la première. Dans ce but, les foudres sont contenus dans une sorte de glacière où le thermomètre doit se tenir au voisinage de 0°. La bière est alors à 2 ou 3°. A température plus basse, la fermentation ne se termine pas suffisamment, et on est exposé à la voir recommencer, et troubler la bière, pendant le voyage chez le consommateur.

Les foudres sont hermétiquement clos, et un petit manomètre en indique à tout instant la pression intérieure. Il importe en effet que, pendant le long séjour que fait quelquefois la bière dans cette cave, la fermentation ne s'arrête pas, et qu'il y ait toujours de l'acide carbonique se diffusant de l'intérieur du foudre à l'extérieur, pour éviter l'introduction de l'air en sens inverse et la production d'acide acétique par le mycoderme du vinaigre, qui s'accommode assez facilement de ce liquide peu alcoolique et peu chargé en matières extrac-

tives. Le ferment lactique, autre ennemi redoutable de ces bières, dont il change complètement le goût, se développe aussi moins facilement dans un liquide chargé d'acide carbonique. Quant aux autres faux ferments, la meilleure protection contre eux est la basse température qui règne dans la cave. Le froid ne les empêche pas de vivre, mais il retarde ou même empêche tout à fait leur développement, et, s'ils n'ont pas été présents à l'origine dans la levure et ensemencés avec elle, il y a sûrement peu de chances de les voir apparaître dans un liquide fabriqué comme nous venons de l'indiquer.

Cette nécessité de maintenir une fermentation lente et continue dans la bière est l'origine d'une pratique très usitée, celle de la nutrition des bières en fermentation en y ajoutant, par petites quantités à la fois, du glucose ou du sucre de canne. On peut ainsi, avec du soin et une attention soutenue, et sans élever beaucoup le titre alcoolique d'une bière, la conduire au delà de son terme, en y maintenant un dégagement lent d'acide carbonique et en bénéficiant de la protection que ce gaz confère.

La lenteur de la fermentation, le caractère spécial de la levure basse font que, lorsque la bière est faite, elle est claire et peut être immédiatement soutirée sous pression, dans les tonneaux de vente. Ce soutirage a lieu, en général, la nuit, pour les raisons que nous avons marquées à propos des bières anglaises, et aussi parce que cette bière perd encore plus que toutes les autres à subir, à la température ordinaire, le contact de l'air. Elle a d'ailleurs besoin d'être accompagnée de glace jusqu'au moment où elle arrive dans le verre du consommateur, moins pour la protéger contre l'invasion des faux ferments, qui n'auraient pas le temps d'agir, que contre la perte de finesse et de bouquet, qui arrive assez vite sous l'influence de l'air et de la chaleur.

Autres modes de fermentation. — Entre le mode de fermentation de la pale ale, qui peut être considéré comme un bon type de fermentation haute, et les fermentations basses des bières allemandes et autrichiennes, se placent, à des niveaux divers, une infinité de modes de fermentation dans le détail desquels il serait trop long d'entrer. Il nous suffira d'avoir montré, dans les deux exemples qui précèdent, que l'on peut faire intervenir la théorie dans l'étude de cet ensemble de recettes, de procédés empiriques et de tours de main, qui constitue une fabrication quelconque. Il ne serait pas difficile de montrer qu'il en est partout de même, et, en poussant dans le détail, de prouver qu'il n'y a, pour ainsi dire, pas une manipulation qui n'ait sa raison d'être, un but déterminé auquel le brasseur, s'il en avait conscience, pourrait quelquefois arriver par des moyens à la fois plus simples et plus sûrs. Mais ce serait trop sortir de notre cadre.

Il y a pourtant un mode de fabrication dont nous voulons dire un mot, à cause de sa singularité. C'est celui qui sert à fabriquer les bières de Belgique les plus estimées : l'*uytzet*, qui est une bière brune fabriquée à Gand et à Bruges ; le *lambick* de Bruxelles, et le *faro*, qui est un mélange de bière brune et de lambick. Toutes ces bières, et surtout le lambick, sont caractérisées par ce fait qu'on n'y ajoute pas de levain, et qu'on les abandonne a une fermentation spontanée.

Si cette fermentation se faisait dans des vases complètement neufs, ou dans d'anciens vases parfaitement nettoyés, il est sûr, par ce que nous savons des propriétés du moût, que ce ne serait pas le ferment alcoolique qui s'y implanterait de préférence, et que la bière nourrirait surtout le ferment lactique ou des mucédinées. Mais les vases de fermentation des brasseurs belges renferment certainement, le long de leurs parois, dans leurs encoignures, sur leurs fonds mal nettoyés, des globules de levure provenant d'une fermentation antérieure, et c'est à leur aide que s'effectue l'ensemencement.

Malheureusement, ainsi qu'on peut s'y attendre, cet ensemencement n'est jamais pur; les ferments lactique, acétique, prennent possession du liquide que ne leur dispute plus avec avantage la levure de bière, et les bières belges ont en effet une saveur acide qui rappelle celle du cidre qui commence à s'aigrir, et qui est loin de plaire à tous les consommateurs. Elles rachètent ce défaut réel par un parfum et un bouquet qu'elles doivent à leur fermentation lente et à un long séjour dans des cuves de *perfection*, où elles vieillissent et se *font* comme le vin. Les bières brunes anglaises, telles que le porter et le stout, ressemblent, sous ce point de vue, aux bières belges. Un long séjour dans les cuves permet le développement d'une saveur acide, mais y favorise la formation, au moyen de ces acides eux-mêmes et de l'alcool, de produits éthérés dont la présence fait passer le consommateur par-dessus la petite défectuosité de goût qu'elles présentent.

Choix des levures. — Dans tout ce qui précède, nous avons volontairement laissé de côté tout ce qui est relatif à la levure. Le problème de trouver ce qu'il en faut pour chaque fermentation nouvelle est pourtant un de ceux qui préoccupent le plus les brasseurs. Il a longtemps représenté pour tous, et représente encore pour beaucoup, l'*inconnue* de la fabrication. Ce n'est pas que l'on manque de recettes pour choisir la bonne levure. Les traités de brasserie en sont remplis. La pratique a, en effet, donné un certain nombre de notions utiles.

C'est ainsi qu'on a reconnu que la force de la levure, que l'on mesure par le nombre de degrés d'atténuation qu'elle peut amener dans la fabrication courante, varie avec la densité de la bière et avec la quantité de houblon employée. La levure des bières faibles se montrera incapable de produire des bières alcooliques. De même, de la levure employée à faire fermenter des bières fortement houblonnées s'affaiblit au bout de quelques générations, et devient incapable de produire l'atténuation nécessaire. Pour la pale ale, par exemple, il faut faire passer la levure dans un brassin de bière douce, et employer par moitié la levure qui provient de ce brassin et par moitié de la levure de pale ale, pour remettre en levain un nouveau brassin de cette dernière bière. Il y a là en jeu des phénomènes physiologiques comme ceux qu'on rencontre chez tous les êtres vivants, et dont l'existence n'a pas de quoi nous étonner.

Mais les brasseurs n'ont eu jusqu'ici qu'une idée confuse de deux faits importants de l'histoire de la levure, ses relations avec l'oxygène d'un côté, de l'autre, son mélange possible avec les faux ferments.

A propos du premier, l'expérience a appris qu'il ne fallait jamais mettre en levain avec des levures trop vieilles, et que leur âge, au moment du remploi,

devait être plus faible en été qu'en hiver. Elle a conduit aussi, dans certaines brasseries, à la pratique de l'aération de la levure que nous avons indiquée plus haut. Dans d'autres, elle a conduit à n'employer que les levures plus jeunes et plus fortement aérées qui s'élèvent dans le liquide pendant la fermentation haute et qu'on recueille en enfonçant dans le liquide, au moment favorable, des parachutes convenablement agencés. Enfin, c'est ce même manque d'aération, jointe à l'influence de pression d'une basse température, qui rend la multiplication de la levure si lente dans le procédé allemand, et crée la difficulté que nous signalions plus haut de trouver en quantité suffisante, à de certaines époques, la semence pour de nouveaux brassins. Depuis que les travaux de M. Pasteur ont attiré l'attention sur l'aération des levures, la question préoccupe les brasseurs, et dans diverses usines on utilise déjà, d'une façon ingénieuse et sûre, les indications de la théorie à ce sujet.

Le progrès était plus facile et il a été non moins rapide du côté de la pureté des levures et de l'emploi du microscope pour la constater. On peut ainsi éviter de mettre en levain avec une levure renfermant une proportion sensible de ferment lactique ou d'une autre impureté; et il est certain qu'en évitant ainsi, à chaque opération nouvelle, de multiplier les germes de maladie, on rend de plus en plus difficile et de plus en plus rare leur développement dans l'atelier et leur invasion dans les moûts ou les bières. Mais on ne les supprime pas complètement. Les opérations de la brasserie sont trop complexes, les agrès trop multipliés, les surfaces à purifier trop grandes pour qu'on puisse espérer que nulle part les faux ferments ne trouveront à se loger et à prospérer. Dès lors, la circonstance la plus insignifiante en apparence leur suffira pour s'implanter dans un moût ou dans une bière, et pour compromettre les résultats de la fabrication.

Dans la pratique, en effet, on peut affirmer qu'aucune levure industrielle, si pure qu'elle apparaisse au microscope, n'est absolument exempte de germes étrangers, qui restent neutres ou se multiplient à peine pendant les premières heures de la fermentation, mais qui prennent ensuite possession du champ que la levure leur laisse libre, menaçent ainsi la solidité de la bière, et déposent dans la levure qu'on en retire des éléments nombreux, qui la rendent plus impure que celle qu'on a ensemencée.

Les brasseurs sont en effet habitués à voir, à un moment donné, la levure dont ils se servent, et qui peut leur avoir fourni plusieurs brassins irréprochables, devenir peu à peu impropre à la fabrication. Ils la jettent alors, nettoient à fond les vases où elle a été introduite, et en empruntent de nouvelle à un collègue plus favorisé, qui la leur envoie volontiers, sûr que le lendemain il aura à leur demander en échange le même service.

Mais la sécurité, dans cette industrie complexe, ne peut venir que de l'emploi de levains tout à fait purs. La chose n'est heureusement pas difficile, et le problème a été résolu par M. Pasteur, dans un procédé nouveau de fabrication de la bière dont il nous reste à dire un mot.

Nouveau procédé de fabrication de la bière. — Dans le procédé nouveau proposé par M. Pasteur, on peut distinguer deux parties princi-

pales : la préparation d'un levain pur, la fermentation à l'abri des germes des ferments de maladie.

Préparation du levain pur. — La préparation du levain pur se fait en mettant en œuvre les procédés que nous avons étudiés dans le courant de cet ouvrage. Il n'est nécessaire d'y revenir que pour indiquer les appareils dans lesquels se fait l'expérience, quand on veut opérer, comme dans la grande industrie, sur des volumes de moût un peu considérables.

Imaginons donc que par une des méthodes que nous connaissons, nous ayons préparé, dans un ballon à deux cols ou dans un matras Pasteur, une petite quantité de levure parfaitement pure. Il s'agit de la multiplier assez pour mettre en levain un brassin de plusieurs hectolitres. Nous prendrons pour cela un bidon en cuivre, comme celui qui est dessiné fig. 70, portant sur sa partie supé-

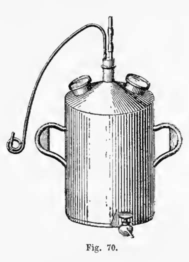


Fig. 70.

rieure conique deux regards en verre opposés qui permettent de voir ce qui se passe dans l'intérieur, et muni d'une tubulure métallique portant deux ouvertures : l'une est fermée par un tube de caoutchouc obstrué par un tube de verre plein ; l'autre est unie à un tube capillaire de cuivre flexible, recourbé en plusieurs spirales à son extrémité libre. Un robinet ferme ce bidon à sa partie inférieure.

Par ce robinet on introduit du moût de façon à remplir le bidon aux trois quarts, et l'on place le tout sur un réchaud à gaz de façon à porter le liquide à l'ébullition. Quand un jet de vapeur sort par la tubulure droite, au travers du tube de caoutchouc, on la ferme au moyen du tube de verre qu'on vient de passer dans la flamme. Le jet de vapeur sort alors par le tube effilé. Au bout de quelques secondes, on arrête l'ébullition et on laisse refroidir. On reconnaît là l'équivalent de nos ballons à col sinueux, dans l'expérience fondamentale de M. Pasteur au sujet des générations spontanées, et l'on sait que le liquide du bidon pourra se conserver indéfiniment sans s'altérer.

Pour le mettre en levain, on y introduit, par la tubulure droite, une parcelle

de levure pure. La fermentation se déclare bientôt, on attend qu'elle ait produit le maximum de levure qu'elle peut développer. Avant qu'elle ne commence à se calmer, on met en communication, au moyen d'un tube de caoutchouc qui sort de l'eau bouillante, le robinet inférieur du bidon avec l'appareil renfermant le moût à ensemencer. On a, au préalable, nettoyé la partie accessible du conduit du robinet au moyen d'eau bouillante, ou bien on a chauffé le robinet lui-même au moyen d'une lampe à alcool. On l'ouvre alors, en même temps qu'on maintient dans la flamme d'une lampe la partie contournée en spirale du tube de cuivre, de façon à flamber tout l'air qui entre pour remplacer le liquide qui s'écoule. En proportionnant le volume du bidon au volume du brassin à ensemencer, on peut ainsi mettre en fermentation des quantités de bière quelconque.

On peut du reste n'employer que des quantités de semence plus faibles que dans les procédés ordinaires. Ce qui oblige le brasseur à forcer les proportions de levain, c'est qu'il doit se mettre en garde contre les fermentations nuisibles qui ne manqueraient pas de se produire, s'il n'assurait, par une forte proportion de levure, la prise de possession de toute la masse dans un court intervalle de temps. Il n'y a rien à redouter de pareil quand on emploie de la levure pure, et l'on peut n'employer que de faibles quantités de levain. Néanmoins il est inutile d'exagérer et d'en mettre trop peu, afin de ne pas retarder trop les débuts de la fermentation. En général, les premiers signes en apparaissent au bout d'un ou deux jours, et elle est dans son plein le quatrième ou le cinquième. Les regards de verre permettent du reste d'en surveiller la marche, et de pratiquer le soutirage au moment opportun.

Fermentation à l'abri des impuretés. — On devine de suite que

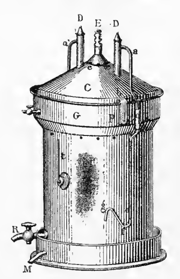


Fig. 71.

l'appareil dans lequel on mettra à fermenter la bière va reproduire, dans de plus grandes dimensions, et avec des arrangements qui rendront la manipula-

tion plus commode, les dispositifs principaux de l'appareil qui vient de nous servir. Il faut en effet que le moût, débarrassé par l'ébullition qu'il a subie dans la chaudière de cuite de tous les germes qu'il peut avoir renfermés, soit mis en contact avec la levure pure dans un appareil qui ne lui permette pas de se contaminer, ni avant fermentation, ni pendant, ni après.

Pour réaliser toutes ces conditions, M. Pasteur s'est servi de l'appareil ci-dessus (fig. 71).

Ainsi que le dessin le fait voir, cet appareil se compose d'une cuve cylindrique de fer blanc, reposant sur un plancher de bois, et fermée par un couvercle mobile dont les bords tombants viennent s'engager dans une gouttière qu'on maintient pleine d'eau.

On recueille le moût bouillant dans cette cuve. Il y arrive toujours assez chaud pour détruire par son contact tous les germes de maladie qu'il aurait pu rencontrer sur ses parois, ou recueillir dans l'air et sur les conduits qu'il a parcourus. On pose le couvercle, celui-ci porte deux tubulures métalliques ($a_1 a'_1$) que l'on unit par des tubes en caoutchouc à des tubes métalliques aussi, fixés le long des parois de la cuve, et terminés à leur partie inférieure par un tube de verre recourbé *egf*, comme l'indique la figure. Sur le couvercle, sur les douilles, leurs bouchons, on jette de l'eau bouillante qui remplit la gouttière du couvercle, *h* (fig. 72), l'excès s'écoule dans une gouttière concentrique exté-

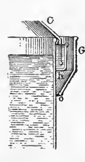


Fig. 72.

rieure G, s'en échappe par une couronne de trous *o* qu'elle porte à sa partie inférieure, puis, après avoir coulé sur la surface du cylindre, s'écoule au dehors par le tuyau de décharge M d'une troisième gouttière.

La bière ainsi enfermée à l'abri des germes peut être abandonnée à un refroidissement spontané, mais on peut aussi la refroidir plus vite en faisant arriver de l'eau froide par la douille E soudée au couvercle. Cette eau s'écoule en nappe sur le couvercle par des ouvertures pratiquées à la base de la douille, tombe dans la gouttière *h*, de là dans la gouttière G, et refroidit le liquide en tombant en nappe le long des parois du cylindre. Il est bon, dans ce cas, de mettre un tampon d'amiante ou de coton à l'extrémité des tubes recourbés *gf*, de façon à débarrasser autant que possible de ses poussières l'air qui rentre assez vite pendant les premières périodes du refroidissement. La température est indiquée à chaque instant par le thermomètre recourbé *t*, protégé dans le cylindre par une douille percée de trous.

Le moût refroidi, on le met en levain. Pour cela, on réunit à l'aide d'un tube de caoutchouc, sortant de l'eau chaude, les deux robinets inférieurs du vase à levain et de la cuve à fermentation. On a d'ailleurs à l'avance purgé les deux robinets avec de l'eau bouillante. Puis on les ouvre. Le levain pénètre sans contamination possible dans la cuve, où les phases de la fermentation s'accomplissent comme à l'ordinaire. Deux oreilles métalliques, en *b*, viennent s'accrocher en I à la gouttière, et empêchent tout déplacement du couvercle.

Aération du liquide. — Il y a pourtant dans cette fabrication un détail en contradiction apparente avec ce que nous avons considéré comme une nécessité dans les pages précédentes, c'est que le moût est très peu aéré au moment de la mise en levain. Placé ainsi en épaisseur dans une cuve couverte, et avec la lenteur qu'il met à absorber l'oxygène, l'expérience montre qu'il met plus de huit jours à s'aérer à 35 centimètres de profondeur. Le levain arrive donc dans une masse privée d'oxygène, mais il reste toujours l'aération par la surface. Les mouvements du liquide et ceux de la levure diffusent peu à peu dans toute la masse les couches qui sont venues s'aérer ou respirer au contact de l'air. Il ne s'agit que d'assurer la libre circulation de cet air, malgré la présence de l'acide carbonique qui se dégage constamment.

On y arrive par un dispositif très simple, et en profitant de la différence de densité de ces deux gaz. Il suffit de pincer pendant quelques instants le caoutchouc *c* qui forme partie de l'un des tubes descendant le long des parois de l'appareil. S'il y avait de l'acide carbonique dans les deux tubes, celui qu'on pince se vide de ce gaz et se remplit d'air, pendant que tout l'acide carbonique produit dans l'appareil se précipite par l'autre; et en cessant de pincer le caoutchouc, on a un siphon dont une des branches renferme un gaz plus lourd que l'autre et produit un appel continu d'air d'un côté, tandis que l'acide carbonique s'échappe de l'autre.

Il est sage seulement, dans ce cas, d'adapter à l'extrémité du tube par lequel se fait l'aspiration, au lieu du tube de verre recourbé qu'il porte d'ordinaire, une sorte de sac ou manchon, formé d'une cage cylindrique en toile métallique, sur lequel on applique une couche de coton cardé, enveloppée elle-même soit d'un sac de mousseline, soit d'une deuxième enveloppe métallique. Le tout est serré autour du tube, de façon à ce que l'air ne rentre qu'au travers du coton cardé, qui le débarrasse de ses poussières.

Quoi qu'on fasse pourtant, les moûts ne seront pas aussi aérés par ce moyen que lorsqu'on emploie le système des bacs et des refroidissoirs. Mais M. Pasteur s'est assuré que l'aération des moûts de l'industrie dépassait la mesure, et enlevait à la bière un peu de sa force et de son arôme. Il suffit que le moût soit aéré au tiers de sa saturation, et mis en levain avec une bonne levure basse, sortant de la fermentation avec un moût aéré dans la même proportion. Les bières qu'on obtient ainsi, avec le nouveau procédé, possèdent, avec une bien plus grande durée de conservation, une qualité égale et une force supérieure à celle des bières ordinaires provenant des mêmes moûts. Elles ont plus de *bouche*, et l'arôme du houblon y est conservé dans des proportions inconnues pour les bières actuelles. Elles ont, il est vrai, une durée de fermentation plus longue;

mais cet inconvénient est compensé par cet avantage que leur levure, à la fin de l'opération, est moins active, plus vieillie que celle qui se forme dans les moûts aérés, moins prompte à donner la fermentation secondaire, et à remonter dans la masse du liquide pour la troubler. De plus, elles peuvent être fabriquées à toutes les températures, bien que l'emploi des températures basses pour les bières basses soit toujours préférable. Enfin, on est dispensé pour ces bières, qui sont et restent pures, si l'opération a été bien conduite, de les faire accompagner, en voyage, des grandes quantités de glace dont il faut les entourer maintenant.

Un procédé qui exige de grands changements dans l'outillage et les habitudes, n'est que bien rarement accepté tout de suite par l'industrie. Mais il n'est pas douteux que celui de M. Pasteur n'y pénètre peu à peu. S'il n'est pas accepté en bloc, il inspirera des modifications utiles dans les pratiques actuelles, il en a même déjà inspiré, et ainsi se prépare le moment où le brasseur ne jugera plus inexécutable chez lui ce qu'il a trop de tendance à appeler dédaigneusement aujourd'hui du nom d'opérations de laboratoire. Aucune industrie n'a plus d'intérêt à remplacer par un laboratoire la cuisine mal tenue dans laquelle elle a presque toujours opéré jusqu'ici.

BIBLIOGRAPHIE

Pasteur. — *Étude sur la bière.* Paris, 1876.

J. Graham. — Leçons sur la fabrication de la bière considérée au point de vue chimique. *Moniteur scientifique*, 1875.

— Études sur la bière (Compte rendu). *Moniteur scientif.*, 1877.

CHAPITRE XLI

FABRICATION DU VIN

Après avoir étudié la fabrication de la bière, nous nous trouvons tout naturellement conduits à nous occuper de celle du vin. Il ne s'agit pas ici, bien entendu, d'examiner dans le détail les diverses pratiques, d'ailleurs innombrables, parce qu'elles varient d'une région à l'autre, qui servent à cette fabrication. Comme à propos de la bière, nous ne cherchons qu'à retrouver l'application, dans une grande industrie, des notions théoriques que nous ont fournies les chapitres précédents ; et si nous avons mis le vin après la bière, c'est qu'avec lui, le problème est bien simplifié, débarrassé qu'il est de tout ce qui est relatif à la levure. Le moût de raisin n'a pas besoin d'être mis en levain, il s'ensemence de lui-même, et tous les faits relatifs à cette phase importante du phénomène ont été assez développés dans ce qui précède pour que nous n'ayons pas à y revenir.

Le raisin apportant avec lui-même sa levure, nous n'avons qu'à envisager les circonstances qui en favorisent plus ou moins le développement, et qui rendent la fermentation plus ou moins rapide et énergique, plus ou moins complète aussi. De ces circonstances, les plus importantes, celles au moins que nous connaissons le mieux, sont l'action de la température et celle de l'oxygène de l'air.

Nous sommes obligés d'en négliger une troisième, qui exerce pourtant une grande influence, c'est celle de la composition du liquide; mais on n'a sur elle qu'un très petit nombre de renseignements. Si le moût est trop sucré, il ne fermentera jamais complétement, à cause de l'influence modératrice de l'alcool. La dose d'alcool qui arrêtera ce phénomène ne sera d'ailleurs pas toujours la même. Elle sera plus élevée à haute température, par exemple dans les pays chauds, qui donnent aussi en moyenne les raisins les plus sucrés; elle sera plus faible dans les pays froids, où la fermentation se fait en général à plus basse température. Les vins de Portugal et ceux qu'on fait en Allemagne pourront par exemple conserver tous pendant longtemps un excès de sucre, avec des proportions d'alcool très différentes, variables par exemple du simple au double. Les pratiques qui reviennent à arrêter la fermentation dans un vin en y ajou

tant du sucre ou en y ajoutant de l'alcool sont en rapport direct avec cet ordre de phénomènes.

L'acidité du moût jouera de même un rôle. La levure aime, comme nous l'avons vu, un liquide acidulé, mais il ne faut pas qu'il le soit trop. Je me suis assuré que les moûts de certains raisins du Jura fermentaient en moyenne beaucoup plus rapidement lorsqu'on avait réduit à moitié ou aux deux tiers leur acidité normale.

Pendant la maturation du raisin, l'acide diminue à mesure que le sucre augmente. Chaque année, pour ainsi dire, est caractérisée par un rapport entre ces deux ordres de substances. Les meilleures années sont celles où le rapport du sucre à l'acide est le plus élevé. Pourtant, il ne faut pas que la proportion d'acide soit trop réduite. Le vin produit deviendrait plat, surtout si le raisin n'est pas de ceux qui ont une saveur par eux-mêmes, car il y a des raisins communs comme il y a des vins communs. L'aramon par exemple, qui fournissait autrefois aux admirables vendanges du Gard, de l'Hérault et de l'Aude, devait être cueilli avant maturité complète, sous peine de donner un vin sans arôme. Il en est de même, bien qu'à un moindre degré, pour la plupart des raisins de France. Seuls, ceux qui sont destinés à faire des vins blancs ont besoin d'être complètement mûrs, nous en verrons bientôt la raison.

Préparation du moût. Égrappage et foulage. — Le raisin destiné à fabriquer des vins blancs est immédiatement écrasé, et les rafles soumises à une pression énergique pour en extraire le jus, qui est recueilli et soumis à part à la fermentation ou *cuvaison*. A un très petit nombre d'exceptions près, ce jus est toujours incolore, qu'il provienne de raisins rouges ou blancs. Le meilleur champagne est fourni par un raisin à robe assez foncée connu sous le nom de *bourguignon* ou *pineau rouge*, qui donne aussi le Clos Vougeot.

Pour les vins rouges, le jus est mis à fermenter avec les pellicules et les grappes. Quelquefois on supprime ces dernières par un égrappage, qui peut être complet comme dans le Médoc, ou partiel comme dans le Jura. D'ordinaire le raisin est soumis à un foulage, soit avant soit pendant la fermentation. Cependant dans le midi de la France, lors des belles récoltes d'autrefois, on avait pris peu à peu, pour des raisons d'économie, l'habitude de jeter le raisin, sans foulage, dans de grandes cuves de pierre ou de bois. La fermentation commençait à l'aide du jus des raisins écrasés ou pendant la cueillette, ou sous le poids de ceux qui les recouvraient; ceux qui étaient intacts éclataient peu à peu par suite d'actions d'endosmose ; ceux qui résistaient cédaient ultérieurement sous la presse, et les marcs se montraient tout aussi bien épuisés que par tout autre procédé.

Il n'est pas nécessaire d'insister sur les détails de cette opération. Ce qui nous intéresse en elle, c'est qu'elle met pour la première fois le moût en contact avec l'oxygène de l'air. Cet oxygène exerce sur lui une double action, une action physiologique et une action chimique.

Action physiologique de l'aération du moût. — Nous savons

déjà en quoi elle consiste, elle est nécessaire pour que les germes de levûre que porte le bois de la grappe ou la pellicule du raisin puissent se développer en cellules de ferment. Nous avons insisté sur le rôle que pouvaient jouer dans l'entraînement et le maintien de l'oxygène au milieu de la masse demi-fluide, la porosité de la grappe, les rainures longitudinales qu'elle porte et où l'air se trouve retenu par des faits de capillarité, le caractère cireux de la pellicule extérieure du grain. Il est clair, *a priori*, que le moût que l'on destine à la production des vins blancs sera toujours moins aéré que l'autre. De là une petite infériorité, qu'on cherche à compenser en le choisissant plus mûr, moins acide, plus sucré, plus disposé à la fermentation.

Dans la fabrication du vin rouge, la façon de traiter le raisin peut produire une aération plus ou moins complète. Lorsqu'on se contente de jeter la vendange dans la cuve, il restera plus d'air dans la masse si on ne la foule pas, que si on la noie dans le jus, par un foulage dans la cuve elle-même. Si on emploie un fouloir, d'où on transvase le raisin écrasé dans la cuve de fermentation, l'aération deviendra encore plus active; si on écrase, comme on le fait quelquefois, par exemple au clos Vougeot, le grain sur le pressoir, d'où le jus s'écoule pour tomber dans un cuveau, et si on transporte ensuite au moyen de hottes le marc et le jus dans la cuve, il y aura là autant de passages au contact de l'air, qui rendront la pénétration profonde de l'oxygène plus facile.

Il existe même, dans certains vignobles, des pratiques qu'on ne croirait imaginées que pour amener une aération complète du moût. En Lorraine, par exemple, existe sur certains points l'habitude de faire brasser la vendange pendant quarante-huit heures consécutives, dans la cuve de fermentation, qu'on ne remplit qu'aux deux tiers. Après cette opération, on abandonne la masse à elle-même pendant douze heures environ, après quoi on fait encore repasser le liquide au contact de l'air, en le soutirant dans des tonneaux où s'achève la fermentation.

Ce n'est pas seulement, en effet, au début de la fermentation que l'action de l'oxygène est sensible. C'est un fait bien connu des vignerons que lorsqu'une fermentation s'affaiblit dans une cuve, il suffit d'un soutirage, voire même d'un foulage au contact de l'air pour le ranimer. Dans la fabrication des vins de Champagne, où il s'agit d'obtenir une fermentation assez active et une mousse assez abondante dans des vins chargés d'alcool, on éprouve quelquefois des difficultés à arriver à ce résultat. Consulté un jour par des négociants sur ce sujet délicat, M. Pasteur leur donna le conseil de ne mettre leur vin en bouteilles qu'après l'avoir fait rouler pendant une demi-heure dans une pièce à demi-pleine. Le vin traité de la sorte était devenu *grand mousseux* en huit jours, et il fallut trois semaines au même vin non aéré pour acquérir une mousse ordinaire.

Cette question de l'aération des moûts a été, il y a quelques années, fort étudiée en Allemagne, où les vins restent trop souvent sucrés après la première fermentation, et subissent plus tard des fermentations complémentaires toujours désagréables et quelquefois funestes. Nous avons vu que les expériences faites sur des liquides artificiels de fermentation avaient été un peu discordantes, et nous avons dit pourquoi. Sur les vins, elles ont été plus probantes.

On les a surtout faits, soit avec une pompe à air proposée par le Dr Blankenhorn, soit avec un fouet à moût de L. Von Babo, où, à l'aide de la force centrifuge, on provoque un brassage très actif du moût au moyen de l'air. Elles ont conduit à la conclusion que la formation de la levure, et par elle la fermentation, était accélérée par l'aération, et qu'on obtenait ainsi plus tôt un vin *fait*, moins susceptible d'éprouver des fermentations secondaires.

Voici d'ailleurs, pour témoigner des résultats de l'aération, une expérience qui nous donnera une idée du *quantum* du phénomène.

Du moût de Ploussard, renfermant l'équivalent de 9gr,3 d'acide tartrique et 200gr,4 de sucre par litre, est réparti par parties égales dans deux bouteilles dont l'une, A, est aérée pendant une heure à l'aide d'un courant d'air intermittent produit par un soufflet. L'autre, B, est laissée telle quelle. Le lendemain, il y a des traces de fermentation en A, rien encore en B. Au bout de deux jours, la fermentation est établie dans les deux, mais fort inégalement, ainsi que le montrent les chiffres de ce tableau, qui donnent les nombres de bulles en une minute pour A et B, et leurs rapports.

	Nombre de bulles.		Rapport.
	A	B	—
2e jour.	9	0,4	22,5
3e —	15	1,25	12
4e —	24	4	6
5e —	40	10	4
6e —	28	16,5	1,7
7e —	20,5	16,5	1,24
8e —	17	13	1,30
9e —	15	11	1,4
10e —	15	10	1,5
11e —	10,5	7	1,5
12e —	11,5	7,5	1,5

On voit que l'avance de A, très grande les premiers temps, n'a pas encore disparu au bout d'une douzaine de jours. La fermentation de A a dû par conséquent finir plus tôt, et celle de B a pu paraître à la fin plus active. On voit aussi que l'influence de l'oxygène absorbé à l'origine s'étend très loin, et dure encore lorsqu'il n'y a plus que de l'acide carbonique dans le liquide. Nous allons voir en effet que l'oxygène introduit disparaît rapidement, mais il n'y a pas contradiction entre les deux faits; car si l'action s'est perpétuée dans A, c'est qu'il s'y était formé, grâce à l'oxygène, une plus forte quantité de levure à l'origine.

Action chimique de l'aération du moût. — Le moût de raisin, tel qu'il est contenu à l'intérieur des grains, ne contient pas du tout d'oxygène libre. Voici en effet les résultats de l'analyse des gaz de deux moûts de raisins blancs, du cépage dit *melon*. L'un, A, avait été obtenu en écrasant à la main les grappes dans un seau, et analysé aussitôt après avoir été filtré au moyen d'un linge. L'autre, B, avait été égrappé, écrasé, et analysé tel quel. Un litre de moût contient :

	A	B
Azote.	11cc,0	12cc,1
Acide carbonique.	80 ,5	94 ,6
Oxygène.	0 ,0	0 ,0

Si l'on agite le moût au contact de l'air, il en dissout, mais l'oxygène n'y persiste pas longtemps. En agitant pendant une demi-heure du moût avec son volume d'air, M. Pasteur a trouvé que l'air qu'on en retirait par l'ébullition, privé de son acide carbonique, renfermait 20 p. 100 d'oxygène après un quart d'heure, et 6 p. 100 seulement une heure après.

L'oxygène que le moût peut dissoudre pendant les soutirages ou pendant qu'il s'écoule en mince filet dans l'air, dans les opérations préliminaires que nous avons décrites, n'y reste donc pas longtemps à l'état libre. Quand le moût est conservé en grandes cuves couvertes ou découvertes, et en repos, l'aération n'est pas plus facile, et l'oxygène est absorbé plus vite qu'il n'est dissous. Un litre de moût de *melon*, conservé depuis quarante-huit heures au libre contact de l'air, dans un large cristallisoir, à une température de 9°, contenait:

Azote	12cc,2
Acide carbonique	91 ,2
Oxygène	0 ,0

On voit que le moût à l'intérieur du grain est saturé d'azote, puisqu'une longue exposition à l'air n'en augmente pas la proportion, mais que l'oxygène qu'il a absorbé en même temps que l'azote s'y combine rapidement avec des principes oxydables. Cette combinaison modifie assez rapidement sa couleur. Le moût de raisins blancs, à peu près incolore au moment du pressurage, devient jaune brun en passant par une série de transitions. Le moût de raisins rouges renferme également des matières incolores qui brunissent au contact de l'air. Enfin le moût récent, dont l'odeur est faible et a quelque verdeur, prend peu à peu, s'il n'est pas filtré, une odeur agréable, éthérée, que tout le monde connaît sous le nom d'odeur de vendange, et qui est en rapport avec l'aération lente du moût, car elle ne se produit pas dans l'acide carbonique.

L'oxygène que le moût dissoudra pendant les opérations de la vendange aura donc à se partager entre la levure qui en a besoin, et l'oxydation du moût. Cette dernière action, plus rapide et plus puissante par les masses qui y entrent en jeu, absorbe certainement à son profit la plus grande partie de l'oxygène dissous. La levure doit, en revanche, s'accommoder mieux de celui qui est entraîné mécaniquement dans les profondeurs du liquide, mais elle risquerait pourtant d'en être privée, si elle n'avait la propriété de reprendre ce gaz à certaines des matières oxydables. Le fait est surtout évident dans la fabrication des vins blancs. Nous avons dit plus haut que leur moût brunit à l'air. Les matières qui subissent cette oxydation sont surtout contenues, d'après Nessler, dans les rafles et dans les pépins. De là une nouvelle raison, à ajouter à celle que nous avons donnée plus haut, de séparer autant que possible les rafles dans la préparation de ces vins. Malgré tout pourtant, le vin brunit un peu, puis il devient légèrement trouble, et donne enfin un précipité brun. Tant que ce précipité insoluble ne s'est pas formé, le vin peut être décoloré par la fermentation. La levure reprend l'oxygène aux matières qui le détenaient, et ce qui prouve que les choses se passent bien ainsi, c'est que, d'après Nessler, l'on peut produire le même effet de décoloration par une foule d'actions désoxydantes, telles que l'addition de sulfate de protoxyde de fer, d'acide sulfureux,

ou même de grenaille de zinc et de quelques gouttes d'acide sulfurique, de façon à produire un dégagement lent d'hydrogène.

Fermentation. — Le processus chimique et physiologique des débuts de la fermentation étant ainsi éclairé dans une certaine mesure, nous pouvons nous demander ce qui se passe pendant ce phénomène. Ici encore nous trouvons à la question un côté physiologique et un côté chimique.

Tous deux sont dans une dépendance étroite avec la température, qui ne doit pas être trop basse, la fermentation marcherait mal et risquerait de ne pas être complète, qui ne doit pas être trop élevée, parce qu'elle s'accompagne d'une perte d'alcool, de bouquet, et de chances plus grandes d'acétification ou de diverses autres maladies. La température est d'ailleurs un élément dont le vigneron n'est guère maître. Il peut maintenir sa cave à fermentation à l'abri des variations extérieures, et assurer à peu près la constance de la température lorsque l'équilibre est établi, mais le degré thermométrique auquel il encuve la vendange est variable d'une année à l'autre, variable même d'un moment à l'autre de la journée. Quand les raisins sont vendangés le matin de bonne heure, le moût peut n'avoir que 3 ou 4° au-dessus de zéro; quand on vendange le soir, les raisins peuvent arriver à 15 ou 20°, et même quelquefois davantage. La rapidité avec laquelle s'établit la fermentation, le temps qu'elle dure, la quantité de sucre qu'elle laisse inaltéré, la proportion de matériaux solides qui entrent ou restent en solution, le degré de coloration, etc., peuvent donc varier, toutes choses égales d'ailleurs, non seulement d'une année à l'autre, mais même d'une cuve à l'autre. De là des irrégularités, des déceptions fréquentes, qu'il est rare que le producteur rapporte à leur véritable cause, les différences de température dans la mise en fermentation.

Liebig avait recommandé autrefois de faire fermenter le vin à basse température et au contact de l'air, par analogie avec la fermentation basse de la bière, qui donne les produits les plus parfumés. L'expérience a montré que cette pratique avait des avantages douteux et rendait l'acétification plus facile. En présence de la difficulté qu'il y avait à maintenir une basse température dans la vendange en fermentation, elle a été abandonnée. Il y aurait au contraire avantage, dans le cas où il s'agit de vins communs, à réchauffer la vendange, de façon à avoir une fermentation plus prompte et plus complète, et un vin plus coloré et prêt à être mis en vente plus tôt. Par contre, quand il s'agira de vins fins, on fera bien de redouter une température trop élevée. Les meilleurs vins de France, les vins du Rhin les plus parfumés sont autant que possibles fermentés au voisinage de 15°.

La fermentation, une fois commencée, devient plus ou moins active, la température s'élève toujours et la favorise. Le moût peut même s'échauffer beaucoup lorsqu'il fermente en grandes masses. Il importe qu'il ne dépasse guère 35°. Un abondant dégagement de gaz se produit, la cuve *bout*, la masse de rafles et de grappes, soulevée par l'acide carbonique, forme *chapeau* à la surface du liquide. Comme ce chapeau, imprégné de liquide alcoolique et exposé à l'air, risque beaucoup de s'acétifier, il faut de temps en temps le briser et l'immerger à nouveau dans le liquide. On y gagne en outre de favoriser ainsi le contact de

la pellicule colorée et du vin, et de dissoudre une plus forte proportion de matière colorante; on a même proposé, pour assurer mieux ce contact intime, de maintenir le chapeau constamment immergé en le retenant, dans l'épaisseur du liquide de la cuve, par des faux fonds à claire-voie. Malgré la complication qui en résulte, cette pratique mériterait d'être adoptée à raison de ses avantages, si elle n'avait aussi un inconvénient. Avec elle, la fermentation s'accomplit d'un bout à l'autre sans agitation du liquide au contact de l'air. On ne peut méconnaître que le foulage du chapeau amène, au contraire, dans le liquide en fermentation, une certaine quantité d'oxygène qui agit certainement sur la marche de la fermentation, et aussi, comme nous le verrons tout à l'heure, sur les qualités du vin.

La fermentation tumultueuse que nous venons de décrire ne dure d'ordinaire que quelques jours. Elle cesse plus ou moins brusquement, et on peut reconnaître à des signes divers que le moment de décuver est arrivé. Le chapeau s'affaisse. En soutirant dans un verre une petite quantité de liquide, on n'y observe plus de dégagement gazeux. La température baisse, et n'est plus que de quelques degrés supérieure à la température ambiante. Enfin, en plongeant un aréomètre dans le liquide, on voit qu'il s'y enfonce à peu près au même degrè que dans l'eau pure. Le moût a en effet une densité supérieure à celle l'eau, voisine de 1,100 dans le midi de la France. Cette densité décroît, au fur et à mesure que le sucre disparaît et est remplacé par de l'alcool, et finalement la diminution de densité produite par ce dernier corps, et l'augmentation due aux matières solides restant en solution, se compensent si bien que la densité moyenne des vins qui ne restent pas sucrés ne diffère guère que de $\frac{1}{1000}$ de celle de l'eau, quelle que soit leur provenance. L'emploi de l'aréomètre peut donc renseigner sur la marche de la fermentation pour le vin comme pour la bière, et même avec une sécurité plus grande que pour ce dernier produit, par ce qu'ici, il n'y a plus aucune incertitude sur la nature de la substance fermentescible

Décuvaison et entonnage. — Quand la fermentation est à point, on soutire le vin trouble pour l'enfermer dans des tonneaux qu'on maintient dans une cave à température basse et aussi constante que possible ; le marc, c'est-à-dire le résidu de la grappe fermentée, est égoutté d'abord, et pressé ensuite. Ce *vin de presse* est le plus souvent mélangé au vin soutiré ou *vin de goutte*. D'après MM. C. Saint-Pierre et Foex, il est plus alcoolique, plus coloré, et de un dixième moins acide que lui; il est aussi un peu plus âpre, plus chargé en tannin, ce qui oblige quelquefois à le consommer à part.

Quoi qu'il en soit, le vin des tonneaux a une constitution que nous devons étudier par le menu, parce qu'elle commande toutes les pratiques ultérieures du traitement et du commerce des vins.

Nous pouvons être bref sur les matières en suspension, qui se composent d'éléments amorphes empruntés à la pulpe du raisin ou apportés par les pellicules et les bois de grappes, et d'éléments organisés parmi lesquels les globules de levure sont les plus abondants. Viennent ensuite des organes divers de végétations cryptogamiques, provenant, ou des grains avariés de la vendange,

ou des productions diverses qui ont pris naissance sur le chapeau. Ces êtres microscopiques, en général aérobies, sont sans action dans un liquide saturé d'acide carbonique. Viennent enfin des microbes divers auxquels nous verrons plus tard que le vin doit ses maladies; nous les négligerons pour le moment. Nous ne sommes pas encore préparés à comprendre le mécanisme de leur action. Nous supposerons que tous les phénomènes que nous allons voir se succéder dans le vin le laissent sain jusqu'au bout.

Tous ces éléments solides se déposent dans le tonneau, et forment au fond une couche de lie qui se tasse peu à peu sous l'influence du repos, en laissant au-dessus d'elle un liquide parfaitement limpide. Ce liquide contient un grand nombre d'éléments en solution. Comme il n'est pas question d'écrire ici une monographie du vin, nous n'insisterons que sur ceux de ces éléments qui jouent un rôle dans les phénomènes que nous étudions.

Sucre. — Signalons d'abord l'existence d'une certaine quantité de sucre, assez faible en moyenne dans les vins de France, dont la fermentation s'accomplit en général à une température suffisante, plus élevée dans les vins des pays chauds et des pays froids. Voici, d'après Frésénius, les analyses de quelques vins du Rhin étudiés quatre mois après la vendange.

	Vin de Hohenheim.	Vin de Markobrunn.	Vin de Steinberg. 1	Vin de Steinberg. 2
Eau	85,079	83,681	84,384	78,275
Alcool	10,707	11,141	10,067	10,170
Extrait	4,214	5,178	5,559	10,555
Sucre	3,580	4,521	4,491	8,628
Acide libre	0,556	0,533	0,497	0,424
Densité	0,9959	1,0012	1,0070	1,0323

L'acide libre de l'avant-dernière ligne du tableau est évalué en acide tartrique. On voit qu'il reste en moyenne 4 p. 100 de sucre. Tous ces vins étaient devenus mousseux en juillet. Ils étaient donc restés le siège d'une fermentation lente, d'autant plus lente que ces vins renfermaient déjà beaucoup d'alcool. Voici d'autres nombres qui nous indiqueront mieux la marche du phénomène. M. J. Boussingault a dosé, dans un vin d'Alsace, dont le moût contenait 183gr,13 de glucose par litre :

	Alcool par litre.
Après 5 jours de fermentation	45gr,66
— 10 —	84 ,16
— 18 —	88 ,77

et on retrouvait à ce moment encore dans ce vin 3gr,77 de glucose, qui se transformèrent eux-mêmes en alcool pendant l'hiver.

Les vins ordinaires renferment d'ordinaire moins d'alcool et moins de sucre en sortant de la cuve de fermentation; mais il s'y produit presque toujours une fermentation secondaire dont nous allons apprécier l'importance.

Alcool. — La proportion d'alcool trouvée dans les divers vins est rarement en rapport avec la proportion de sucre disparu, même en tenant compte de la portion de ce sucre qui passe à l'état de glycérine, d'acide succinique ou d'autres produits. Voici, pour prouver ce fait important, quelques chiffres dus à M. Pasteur. Ils donnent l'acidité, évaluée en acide tartrique, et le sucre constatés dans le moût et dans les grains de deux récoltes de Ploussard, A et B.

	A		B	
	Moût.	Grains.	Moût.	Grains.
Acidité par litre.	8gr,9	7gr,2	9gr,5	8gr,9
Sucre.	221 ,4	226 ,5	196 ,4	196 ,4

Les vins provenant de ces moûts renfermaient en alcool et en acide :

	Alcool.	Acide.
A	12,5 p. 100	8gr,0 par litre.
B	10,9 —	9 ,3 —

En calculant théoriquement pour A la proportion d'alcool, d'après l'équation de Lavoisier et de Gay-Lussac, au taux moyen, de 223gr,4 par litre, on devrait trouver 14,3 p. 100 d'alcool : la perte serait donc de 14,3 — 12,5 = 1,8, soit 13 p. 100. Pour B, la perte est de 13,5. Elle a été trouvée de 11,7 p. 100 avec une autre vendange de Ploussard, de 15,2 p. 100 avec une vendange de *tous plants*. Dans d'autres expériences, M. J. Boussingault n'a retrouvé sous forme d'alcool, dans le vin rouge de Lampertsloch, que les 90 p. 100 du glucose initial.

Tous ces chiffres sont notablement supérieurs à ceux qui résulteraient de la déviation normale du phénomène d'avec ce qu'il serait suivant l'équation de Gay-Lussac, si la déviation se faisait dans les proportions résultant du travail de M. Pasteur sur la fermentation alcoolique. Cette perte d'alcool est attribuable à diverses causes.

1° Une portion s'en va par évaporation. Pour la recueillir, on a imaginé diverses bondes hydrauliques, dont la première, construite par Mlle Gervais, a été recommandée par Gay-Lussac. Mais ces bondes ne pourraient donner un lavage parfait de l'acide carbonique qui s'échappe, qu'à la condition d'être très compliquées, et leur usage est à peu près abandonné ;

2° Une autre portion reste à l'état condensé dans le marc. Nous avons vu que d'après MM. C. Saint-Pierre et Foex, le vin de presse était plus alcoolique que le vin de goutte. Je me suis assuré que le liquide dont le marc reste imprégné est plus fortement chargé d'alcool que le vin de presse. Mais en tenant compte de ces deux causes d'erreur dans l'évaluation, on ne comble pas la différence constatée. Il faut donc que la fermentation s'accomplisse dans le moût de raisin un peu autrement que dans les liquides artificiels sur lesquels jusqu'ici ont porté toutes les études.

Acidité. — La fermentation est par elle-même une cause de production d'acides. Si l'acide succinique est produit en mêmes proportions que dans un liquide artificiel, l'acidité d'un moût renfermant 200 grammes de sucre par

litre doit augmenter d'environ 1 gramme par litre, si on l'évalue en acide tartrique.

D'autre part, le bitartrate de potasse que tous les vins renferment est sensiblement moins soluble dans un liquide alcoolisé à 10 p. 100 d'alcool. Une portion doit donc se précipiter pendant la vinification. Suivant celle de ces deux causes de variation qui l'emporte, on doit observer une augmentation ou une diminution dans l'acidité, quand on compare le moût au vin qui l'a produit.

D'après MM. Berthelot et de Fleurieu, l'acidité totale diminue pendant tout le temps de la première fermentation dans les vins de Bourgogne, et dans des proportions assez notables, comme le montrent les chiffres suivants qui donnent, pour deux vins, l'acidité par litre évaluée en acide tartrique.

	Givry.	Formichon.
Moût	10gr,0	10gr,1
Vin après 6 jours de fermentation.	»	8 ,1
— 15 —	5 ,8	»
Perte d'acidité	4 ,2	2 ,0

D'après ces savants, la perte d'acidité n'est due qu'en partie à la précipitation de la crème de tartre. L'éthérification n'en absorbe aussi qu'une proportion minime ; la disparition du reste est inexpliquée.

Dans les chiffres d'analyse que nous avons empruntés plus haut à M. Pasteur, il y a au contraire partout une augmentation d'acidité. Il en est de même dans les expériences soignées de M. J. Boussingault, et tel paraît être aussi le cas général.

Matière colorante. — La matière colorante du vin, à l'état de dilution où elle existe dans ce liquide au moment de la décuvaison, le laisserait incolore et y resterait invisible, si le vin était absolument neutre. Ce sont les acides qui lui donnent sa teinte, chacun avec un degré de vivacité qui dépend de sa nature. C'est l'acide sulfurique qui fournit, toutes choses égales d'ailleurs, la teinte la plus vive et la plus riche. L'acide tartrique se tient tout près, mais à un niveau inférieur. La crème de tartre n'équivaut pas, sous ce point de vue, à ce qu'elle renferme d'acide tartrique libre. La nature des acides libres d'un vin n'est donc pas sans influence sur sa couleur.

La proportion dissoute de matière colorante joue aussi naturellement un rôle. Cette quantité dépend à son tour du degré alcoolique du vin et du temps de son contact avec la rafle. A ce sujet, quelques détails sont nécessaires.

A l'état où elle se trouve dans le vin de goutte, où elle n'a pas eu sensiblement le contact de l'oxygène, la matière colorante est une matière transparente, ayant la couleur et la consistance de la gelée de groseille un peu ferme. Elle est soluble dans l'eau et l'alcool, auxquels elle donne une teinte gris de lin à peine sensible, qui tourne au rouge sous l'action des acides. Abandonnée à l'air, elle absorbe l'oxygène, se fonce en couleur, devient de plus en plus insoluble dans l'eau, puis elle finit par déposer des pellicules qui, si l'on évapore complètement la solution, restent sous forme d'un enduit cohérent, de volume plus faible qu'à l'origine, opaque, et se détachant en écailles.

A cet état, elle est devenue insoluble dans l'eau, mais elle est restée soluble dans l'alcool, qu'elle colore d'une belle teinte pourpre, même en l'absence des acides. En ajoutant de l'eau à cet alcool, on ne la précipite pas tout d'abord. Elle est par conséquent encore un peu soluble dans les liquides alcooliques. Mais elle se sépare à nouveau sous l'influence du temps, et sa précipitation est même immédiate si l'on ajoute une goutte d'acide. A cet état, elle est en effet moins soluble dans les liquides acidulés que dans les mêmes liquides neutres, contrairement à une opinion généralement répandue.

Le dépôt qu'on obtient par l'action du temps ou des acides n'est pas le dernier terme des transformations que peut subir la matière colorante. Elle finit par devenir insoluble même dans l'alcool concentré, et se présente alors sous la forme de lamelles cohérentes, dures, à reflets métalliques. Cela a lieu sans intervention nouvelle de l'oxygène de l'air et par suite d'une sorte de phénomène d'isomérie, ou d'une sorte d'augmentation dans la cohésion, analogue à celle qui se produit dans divers précipités minéraux et organiques. L'absorption d'oxygène a lieu à l'origine, et suffit pour assurer avec le temps cette série de transitions.

Nous retrouverons bientôt quelques-unes des conséquences de ces propriétés de la matière colorante. Pour le moment nous en tirons l'explication de la façon dont elle se dissout dans le vin pendant la fermentation. Elle pourrait se dissoudre dans l'eau, comme nous l'avons vu, mais sa dissolution est aidée par l'alcool pour deux raisons. La première, c'est que sa solubilité, surtout si, malgré tout, elle a subi un commencement d'oxydation, est plus grande dans un liquide alcoolique. La seconde, c'est qu'elle est contenue à l'état normal dans des cellules qui ne se brisent pas, et d'où elle ne peut sortir que par voie de diffusion. Or cette diffusion est plus facile dans un liquide alcoolique que dans l'eau pure.

Gaz du vin. — Le moût qui fermente ne renferme, comme nous l'avons vu, que de l'acide carbonique et de l'azote. Ce dernier gaz doit être complétement chassé pendant la fermentation, de sorte que nous devons nous attendre à ne trouver dans le vin de goutte que de l'acide carbonique.

C'est en effet ce que l'expérience vérifie. Dans une expérience de M. Pasteur, un vin de l'année, âgé d'un mois, renfermait par litre, à la température de 7°, $1^{lit},481$ de gaz acide carbonique parfaitement pur.

Les matières oxydables que nous avons constatées dans le moût existent aussi dans le vin. La fermentation est plus propre, d'un autre côté, par son caractère général, à en augmenter la proportion qu'à les détruire. Il est donc permis d'admettre que le vin, comme le moût, et encore plus que lui, sera avide d'oxygène.

En agitant en effet pendant quelques instants le vin ci-dessus avec son volume d'air, dans une bouteille de grandeur convenable, et analysant les gaz au bout d'une demi-heure, on y a trouvé, en dehors de l'acide carbonique dont la proportion avait naturellement un peu diminué, $14^{cc},5$ de gaz azote et $4^{cc},7$ de gaz oxygène par litre.

L'oxygène et l'azote ne sont pas dans les rapports voulus par les lois de solu-

bilité. L'azote est en excès. Il doit donc y avoir eu un peu d'oxygène absorbé dans des phénomènes d'oxydation. Ce qui prouve qu'il en est ainsi, c'est que si l'on examine le même vin aéré, au bout de vingt-quatre heures de séjour dans un flacon bien bouché, on y trouve la même proportion d'azote, mais plus du tout d'oxygène.

L'oxygène absorbé entre donc rapidement en combinaison avec certains principes oxydables du vin. Nous devons donc aussi nous attendre à trouver ce gaz absent dans les vins conservés en tonneaux. C'est en effet ce qui a lieu. M. Boussingault a constaté depuis longtemps que les vins ne contiennent que de l'acide carbonique et de l'azote. Dans un vin de deux ans, M. Pasteur a trouvé par litre 200^{cc} de gaz acide carbonique et 16^{cc} de gaz azote, sans trace d'oxygène. Le vin avait pourtant été soutiré deux fois depuis l'entonnaison,

Ce sont précisément les relations qui s'établissent entre l'oxygène et les substances que nous venons de mentionner dans le vin qui constituent l'histoire physiologique et chimique de ce liquide, telle que nous nous sommes proposé de la tracer. Nous allons voir que le vin nouveau ne se *fait* et ne devient du vin vieux que grâce à l'action de l'oxygène. Examinons à ce point de vue les diverses pratiques de la conservation et du commerce des vins.

Soutirages. — Au moment où l'on a soutiré le vin de la cuve de fermentation pour le transvaser dans les tonneaux, le vin saturé d'acide carbonique a eu le contact de l'air. Si rapidement que se fasse cette opération, M. Pasteur s'est assuré qu'elle avait pour conséquence l'introduction d'une certaine quantité d'oxygène dans le vin. Cet oxygène y exerce des actions diverses.

Il sert d'abord à réveiller un peu l'activité de la levure, et à assurer par conséquent la transformation dans les tonneaux de la petite quantité de sucre qui a pu ne pas disparaître pendant la fermentation tumultueuse. Cette fermentation secondaire, souvent produite comme nous l'avons vu par une autre levure que celle qui a présidé à la fermentation principale, et qui est souvent le *Saccharomyces Pastorianus*, ne doit jamais durer longtemps. Il importe en effet que le liquide puisse prendre tout de suite le repos qui favorise la formation du dépôt et la séparation des lies.

Celles-ci ont quelquefois un volume si notable qu'il est sage de les séparer du vin par un second soutirage, fait en général à l'entrée de l'hiver. Ce second soutirage fait encore pénétrer dans le vin une nouvelle quantité d'oxygène et y provoque un nouveau dépôt, qui cette fois-ci est surtout un dépôt d'oxydation.

Cette oxydation porte sur les matériaux oxydables solubles que renfermait le vin, et qui se déposent alors sous la forme de masses amorphes. Elle porte aussi sur une partie de la matière colorante, qui prend peu à peu la forme de précipité insoluble dans les liqueurs acidulées, et se précipite sous forme de granulations presque invisibles, très différentes des feuillets mamelonnés qu'elle donnera plus tard. A ce moment elle est encore assez soluble dans l'alcool concentré. Tout cet ensemble de matières organiques, de substances colorantes se précipite mélangé à de la crème de tartre, aux globules de levure dont le vin a emporté les germes dans le second soutirage, et qui ont

continué de s'y développer. Souvent aussi des ferments de maladies se joignent à la masse, et le tout forme un nouveau dépôt, parfaitement tassé pendant l'hiver, mais qui a une tendance à remonter dans le liquide et à le troubler, au moment où les premières chaleurs du printemps, pénétrant dans la cave, et élevant la température du vin, y provoquent un plus abondant dégagement de l'acide carbonique dont il est alors encore saturé.

De là l'utilité, au printemps suivant, d'un soutirage nouveau qu'on devra faire plus tôt ou plus tard, plus tôt pour les vins délicats, plus tard pour les autres, mais pour lequel on ne doit jamais dépasser la fin de l'hiver. L'époque de ce soutirage reste liée, dans l'esprit de la plupart des vignerons, à la première ascension de la sève dans les arbres. On voit que ces phénomènes sont sans relation l'un avec l'autre, mais qu'ils doivent être en effet concomitants.

A partir de ce moment, et si nous laissons pour le moment de côté la pratique de l'*ouillage*, sur laquelle nous reviendrons quand nous serons prêts à en comprendre la raison d'être et l'influence, le vin n'a plus besoin que d'être soutiré tous les ans, vers le mois de mars, pendant toute la durée de son séjour en tonneaux. Pour les vins fins, il sera même utile de faire par an deux soutirages, un en mars, l'autre à la fin d'août ou au commencement de septembre. Ce second soutirage est à son tour rattaché par les vignerons à l'idée d'une relation entre le travail du vin dans la cave et le travail de la sève dans la vigne, où sa circulation est en effet alors très active. On voit qu'il y a encore ici une relation de fait. La fin d'août ou le commencement de septembre sont les époques où les fortes chaleurs de l'été, qui sont toujours en retard dans leur pénétration dans les caves, y font le mieux sentir leur influence, et où il est par suite le plus utile de séparer le vin de ses lies, où il trouve presque toujours des agents de destruction tout formés et prêts à agir. En soutirant, on force ces faux ferments à se reproduire avant de pouvoir faire sentir leur influence.

Conservation en tonneaux. — On devine l'effet que doivent produire peu à peu tous ces soutirages. Chacun d'eux introduit dans le vin une certaine quantité d'oxygène qui est employé plus ou moins rapidement à des phénomènes d'oxydation. Mais ce n'est pas par là seulement que l'oxygène arrive au liquide. De toutes les pratiques de la conservation des vins, la plus importante à ce point de vue est peut-être celle qui consiste à conserver le vin dans des tonneaux de bois de chêne. Les parois de ces tonneaux donnent lieu à une évaporation active, variable avec l'épaisseur des douves, avec l'état du tonneau, avec la nature du vin, et enfin avec la cave, son exposition, sa température et la distribution de ses courants d'air. Le premier soutirage, en débarrassant le vin de son excès d'acide carbonique, a diminué la tension intérieure du gaz dans le tonneau et rendu les phénomènes de diffusion plus faciles. Constamment le vin s'échappe par évaporation, et le vide qu'il laisse est rempli par de l'air dont l'oxygène est rapidement absorbé. Constamment aussi, des échanges gazeux se font de l'extérieur à l'intérieur par le bois poreux des douves. L'influence de cette cause d'aération est difficile à apprécier par des chiffres, mais la première peut se mesurer facilement dans les vignobles qui possèdent

la pratique de l'ouillage, c'est-à-dire qui remplacent d'une façon régulière par du vin tout le liquide qui a disparu par évaporation dans les tonneaux, de façon à maintenir ceux-ci constamment pleins. La mesure de l'évaporation est donnée par les quantités de vin nécessaires pour l'ouillage. Voici, à ce sujet, quelques chiffres recueillis en Bourgogne : Dans ce vignoble, le vin de goutte, mélangé à tout ou partie du vin de pressoir, est entonné dans des foudres, ou plus ordinairement dans des pièces de 228 litres, toujours de bois neuf. Le vin est soutiré trois fois la première année, en mars, mai et septembre, et deux fois les autres années, en juin et en octobre. Il reste en moyenne quatre ans en tonneau. Cette durée est très variable selon les années, les crus, et aussi selon la capacité des tonneaux où le vin est conservé. Le Clos-Vougeot ne reste pas en moyenne moins de six ans en tonneau. Le Chambertin, le Romanée, le Volnay, le Pomard sont mis en bouteilles au bout de trois ou quatre ans.

Or la vidange d'un tonneau de 228 litres n'est pas moindre de trois quarts de litre tous les vingt-cinq jours dans les caves du Clos-Vougeot, pendant la première année, lorsque le vin est jeune et le tonneau neuf. Après deux ans, elle tombe à demi-litre pour la même période. Si la période de conservation est de trois ans, cela ne fait pas moins de 35 litres de vidange, correspondant à 30^{cc} d'oxygène absorbé par litre pour les trois années, et il faudrait encore ajouter celui qui a été amené par les soutirages, bien qu'en Bourgogne le soutirage se fasse, autant que possible, à l'abri de l'air.

Ce chiffre lui-même est d'ailleurs un peu variable. Il diminue quand le volume du tonneau et l'épaisseur des parois augmentent. Il est plus faible dans les caves profondes et peu aérées, mais il est toujours considérable, et ne saurait évidemment passer inaperçu. Examinons les effets qui résultent de cette intervention de l'oxygène.

Lorsqu'on l'exagère en se mettant dans les conditions que nous allons indiquer tout à l'heure, M. Pasteur a constaté qu'une portion des acides du vin disparaissait comme brûlée. Il y a donc de ce fait, et avec le temps, une diminution d'acidité. M. Pasteur l'a vue atteindre 12 p. 100 dans un vin exposé à la lumière avec son volume d'air.

La matière colorante s'oxyde et passe peu à peu à l'état insoluble; quelquefois l'effet est immédiat, et la couleur du vin se fonce sensiblement après l'aération, soit parce que l'oxygène fonce la teinte de la matière colorante dissoute, soit par suite de l'apparition d'un fin précipité de matière colorante, devenue insoluble, comme nous l'avons vu, dans les liquides alcooliques étendus. D'autres fois, lorsque les proportions d'acide et d'alcool sont convenables, et que l'oxydation n'a pas été poussée trop loin, il se peut que rien ne se produise et que le vin conserve sa teinte et reste parfaitement limpide, mais l'oxydation n'en est pas moins produite, et la matière colorante, restée dissoute à ce moment encore, finira par se déposer; il n'en restera en solution que ce qui correspondra au degré d'oxydation, à la quantité d'acide et d'alcool en présence. La température n'intervient que pour hâter l'oxydation. Je n'ai pas vu qu'elle eût une influence sensible sur la quantité de matière colorante restant en solution.

Lorsque la matière colorante se dépose rapidement, elle forme un précipité volumineux et peu cohérent. Lorsqu'elle se dépose lentement, elle donne des

feuillets plus ou moins adhérents au vase qui la renferme. Lorsque ces deux sortes de précipités se succèdent dans un vin, le second fixe en général le premier, et l'ensemble se présente sous la forme de lamelles irrégulières, couvertes de petits mamelons, sorte de cristallisation en rognons qui témoigne de la lenteur du dépôt.

Mais ce n'est pas seulement sur les acides et la matière colorante que l'aération du vin fait sentir son influence. Elle exerce sur l'ensemble des matériaux de ce liquide une action qui, bien que plus obscure et plus difficile à décrire en détail que les précédentes, n'en est pas moins remarquable et importante. Nous allons voir en effet que c'est l'oxygène de l'air qui transforme avec le temps le goût du vin, et lui donne ce caractère particulier, cette homogénéité et cette plénitude qui constituent la saveur du vin vieux.

Vieillissement du vin. — Supposons qu'à la fin de la fermentation, au moment où le vin, déjà clair, est encore saturé d'acide carbonique, on en emplisse une bouteille par un procédé tel, qu'en aucun moment de la manipulation le vin n'ait le contact de l'air. Il suffit pour cela de le prendre à la cuve de fermentation et de le faire arriver au fond d'une bouteille qu'on a remplie d'acide carbonique. Celle-ci pleine, on la ferme hermétiquement au moyen d'un bon bouchon qu'on recouvre d'une couche épaisse de cire à cacheter. Le vin ainsi traité conserve indéfiniment les propriétés qu'il avait au moment du soutirage. Sa couleur se modifie à peine. Sa saveur ne change que d'une manière inappréciable. Il reste du vin vert, nouveau, et ne prend aucun bouquet. Le seul dépôt qu'on trouvera dans la bouteille sera formé des globules de levure de bière ou des matières amorphes que le vin aura apportés avec lui. Il n'y aura pas de matière colorante.

Le reste du vin, conservé à la façon ordinaire, et soumis aux manipulations habituelles, se dépouille cependant d'une portion de son acide carbonique et de sa matière colorante. Il change de goût, il devient du vin vieux. Quelle différence y a-t-il entre ces vins? Uniquement celle qui résulte du contact du second avec l'oxygène, et de l'absorption exercée sur ce gaz pendant les soutirages, ou par voie de diffusion pendant le séjour dans les tonneaux.

Recommençons en effet notre expérience de mise en bouteilles, mais sans prendre de précautions spéciales pour éviter l'accès de l'air. Laissons le jet de vin s'éparpiller dans la bouteille, et laissons celle-ci au tiers ou à moitié vide. Tandis que tout à l'heure, le vin à l'abri de l'air ne se troublait, ne se modifiait pas, et ne déposait que les globules de ferment qu'il tenait en suspension, nous voyons notre vin fortement aéré donner un dépôt amorphe, qui trouble dès les premiers jours la limpidité du vin. Ce dépôt va peu à peu en augmentant, puis devient adhérent à la bouteille par le mécanisme que nous connaissons. En même temps l'oxygène disparaît de l'air resté au contact du vin, et celui-ci change du tout au tout, perd sa verdeur et sa saveur originelle, développe son bouquet spécial, atteint ou même dépasse la saveur du vin vieux, suivant qu'il a été en contact avec un volume d'air plus ou moins considérable, et finit par prendre au plus haut degré le goût de Rancio si c'est un vin rouge, le goût de Madère si c'est un vin blanc.

Le degré de son dépouillement est en rapport avec ces caractères organoleptiques. Le vin rouge ne conserve plus, par suite de la disparition de sa matière colorante, qu'une teinte pelure d'oignon qui peut s'affaiblir beaucoup. Le vin blanc se fonce notablement, et tous deux, lorsque l'oxygène a épuisé son effet sur eux, arrivent à une teinte jaune clair qui correspond à la disparition totale de la matière colorante, et à l'oxydation de matériaux primitivement incolores.

« Quelques semaines d'exposition à l'air et à la lumière produisent donc, dit M. Pasteur, l'effet de dix et vingt années de tonneau. Que le vin vieilli et rendu odorant avec cette rapidité d'action n'ait pas exactement les qualités requises par les dégustateurs pour les meilleurs vins de garde, et qui ont vingt et trente années de tonneau, c'est ce que je n'examine pas en ce moment. Il ne s'agit pas ici de nuances de goût, mais de ces grands effets de précipitation de matières, de changement de couleur, de développement de bouquets *sui generis*, et de cet ensemble de propriétés qui font dire qu'un vin est parfaitement dépouillé, inaltérable, incapable de déposer encore, et d'un âge très avancé. Je le répète, toutes ces modifications si profondes, on peut les déterminer en quelques semaines par l'emploi de l'oxygène de l'air.

« La combinaison de l'oxygène avec le vin, tel est donc, ce me semble, l'acte essentiel du vieillissement du vin. »

Quant à la façon dont cette combinaison doit se faire, pour donner au vin son maximum de valeur, c'est une question de manipulation et de pratique industrielles. L'expérience montre qu'elle doit être lente. C'est une condition qu'assurent les soutirages à longs intervalles et le séjour dans des vases poreux. Tout soutirage a pour effet d'introduire dans le vin une dose d'oxygène exagérée, dont le premier effet est d'abord nuisible, surtout s'il s'agit d'un vin vieux, déjà dépouillé, et où la matière oxydable commence à faire défaut. Le vin se trouble et prend un goût plat, s'évente, comme on dit d'ordinaire, et M. Berthelot avait fort sagement rattaché ce phénomène de l'évent à une absorption trop rapide d'oxygène par le vin. Quelquefois même dans ces conditions, on trouve au goût une certaine amertume et on constate la disparition partielle du bouquet. Mais ces effets sont passagers et disparaissent lorsque l'oxygène, présentement à l'état libre dans le vin, a pu s'y combiner chimiquement avec ceux des principes qui peuvent ensuite le retenir indéfiniment, et que les dépôts d'oxydation sont effectués.

Dans les tonneaux, l'oxydation se fait d'une façon plus régulière, et avec une lenteur qui permet de l'arrêter au moment où le vin a atteint son plein. Laissé plus longtemps dans le bois poreux, ce vin ne pourrait maintenant que décliner. C'est à ce moment qu'il est utile de le mettre en bouteilles. Il est même sage de ne pas attendre que le maximum utile de l'oxydation soit atteint, à cause de l'oxydation nouvelle subie pendant le transvasement. Ici, dans ces bouteilles qu'on remplit avec un jet de vin très mince et en général fort éparpillé, les phénomènes d'évent dont nous parlions tout à l'heure sont plus prononcés. Ils se font même avec une telle régularité qu'ils portent en Bourgogne le nom de *maladie de la bouteille*. Tous les grands vins perdent de leur qualité pendant les premiers jours. Mais au bout d'un ou deux mois, tout l'oxygène dissous a été employé, et le vin est immobilisé dans sa constitution ac-

tuelle. Il n'a plus rien à attendre que des réactions mutuelles de ces divers éléments, par exemple des actions d'éthérification entre ses acides et l'alcool qu'il contient. Il ne lui arrive que très peu d'air par le bouchon, lorsque l'humidité et les années ont peu à peu détruit la cire. Aussi peut-il attendre, mais il ne doit pas attendre trop longtemps. Il finit là aussi, et avec le temps, par décliner, par vieillarder, toujours par une oxydation exagérée. Sa couleur s'affaiblit, prend cette teinte pelure d'oignon si différente du rouge des vins vieux, ses acides sont brûlés. Sa richesse en alcool semble même être atteinte, et on revient par un détour plus ou moins long à un état que l'on pourrait déterminer en quelques jours, au moyen du large contact de l'oxygène.

BIBLIOGRAPHIE

Pasteur. — *Études sur le vin.* 1re édition, Paris, Imprimerie impériale, 1866, et 2e édition, Paris, Savy, 1873.
Fresenius. — *Ann. der Chem. und Pharm.*, t. CI.
Mulder. — *Chemie des Weines*, Leipzig, chez J.-J. Weber.
Nessler. — *Der Wein. Seine Bestandtheile.* Chemnitz, chez E. Focke.
— *Behandlung des Weines.* Stuttgard, chez E. Ulmer, 2e éd.
Blankenhorn et Rösler. — *Uber den günstigen Einfluss vermehrten Luftzutritt zum Most auf den Verlauf der Gahrung. Ann. der Œnologie*, t. I.
L. von Babo. — *Uber das Luften des Mostes. Ann. der Œnologie*, t. I.
A. Blankenhorn. — *Uber Luftungs Versuche in Italien. Ann. der Œnologie*, t. I.
Berthelot. — *Comptes rendus*, t. LVII, p. 795 et 983; t. LVIII, p. 90 et 92.
C. Laorey. — *Traité de viticulture et d'œnologie.* Paris, Savy, 1880, 2e éd.
— *L'art de faire le vin.* Paris, Savy, 4e édition, 1880.
Berthelot. — Essai sur la formation des éthers dans les vins et autres liquides alcooliques. *Annales de chim. et de phys.*, 4e série, 1864, t. I.
Berthelot et de Fleurieu. — Sur le dosage de l'acide tartrique, de la potasse et de la crème de tartre contenus dans les liqueurs vineuses. *Ann. de chim. et de phys.*, 4e série, t. V.
Duclaux. — Recherches sur les vins. *Ann. de chim. et de phys.*, 5e série, 1874, t. II et III.
J. Boussingault. — Sur la fermentation des fruits à noyaux. *Ann. de chim. et de phys.*, 4e série, t. VIII et XI.
A. Gautier. — *La sophistication des vins.* Paris, 1877.



CHAPITRE XLII

FABRICATION DE LA LEVURE

La levure employée à la fermentation dans les brasseries se multiplie activement dans le liquide nutritif où on l'introduit, et le brasseur en récolte toujours plus qu'il n'en a semé. La multiplication est surtout sensible avec la levure haute, et quand le liquide fermentant se trouve amené, par suite des pratiques de fabrication, à subir le contact de l'air. Dans certaines fabrications françaises de bière haute, par exemple, le moût en pleine fermentation est envoyé dans de petites futailles ou même dans les fûts d'expédition, où la fermentation se termine. Le dégagement gazeux, activé encore par le transvasement, détermine le dégorgement par la bonde d'une grande quantité de levure qui coule le long des parois du tonneau, et est reçue dans un chantier à gouttière dans lequel elle séjourne quelques heures au contact de l'air, immergée dans un liquide nutritif et sensiblement aéré. Si l'on se rapporte aux notions que nous avons données au chapitre XX sur la culture de la levure végétale, on ne saurait trouver de conditions meilleures pour la multiplication des cellules. Aussi ne faut-il pas s'étonner que le brasseur récolte d'ordinaire huit à dix fois, et dans certains cas douze à quinze fois ce qu'il a semé de levure. Théoriquement, comme nous le savons, il pourrait en récolter cent et mille fois, et même plus, car il pourrait produire la fermentation avec une seule cellule de levure.

De cette levure, une partie, celle que le brasseur juge la meilleure et la plus active, rentre dans le courant de la fabrication et sert à provoquer une fermentation nouvelle. Le surplus est vendu, soit à des distilleries de mélasse qui en usent de grandes quantités pour la fermentation de leurs moûts sucrés et peu nutritifs, où la levure se détruit et se perd en agissant, soit aux boulangers et aux pâtissiers qu'une vieille tradition, dont la raison d'être échappe encore à la science, conduit à faire fermenter leur levain par l'addition de levure de bière.

Pour ce dernier usage, la levure ordinaire de brasserie n'est pas sans quelques inconvénients. Elle est d'ordinaire assez sale, et mélangée, soit d'une sorte de matière résineuse provenant des cônes de houblon, soit de débris divers, ayant résisté au passage au tamis et qui se retrouvent dans la pâte. Chose plus grave, la levure apporte souvent avec elle un goût d'amertume qui tient sans

doute à son mélange intime avec les grains de lupuline, et qui apparaît dans le pain et surtout dans les pâtisseries fabriquées avec elle. De plus, les levures de brasserie sont, comme on le comprendra facilement si l'on songe à l'incertitude qui pèse sur la plupart des opérations, de force extrêmement variable. Enfin le remplacement, que nous avons signalé, des brasseries à fermentation haute par des brasseries à fermentation basse, a diminué la production de levure, de sorte que les demandes de ce produit allant en augmentant, il s'est formé une industrie nouvelle, celle de la fabrication de la levure, dans laquelle on se propose d'obtenir une levure aussi active et aussi homogène que possible, régulière dans son action, et remplaçant avec avantage dans certaines industries la levure de brasserie. Pour donner une idée de l'importance de cette industrie, je dirai que la fabrique de levure de Maisons-Alfort produisait par jour, en 1877, 2,250 kilogrammes de levure fraîche, qu'elle expédiait en France, en Belgique, en Hollande et en Angleterre. La quantité de céréales (orge, seigle et maïs) entrant dans la fabrication était de 25,000 kilogrammes. La distillation des liquides alcooliques fournissait par jour 7,000 litres d'alcool. Avec les résidus de fabrication on engraissait 1,700 têtes de gros bétail. 100 kilogrammes de céréales donnaient 9 kilogrammes de levure pressée, 28 litres d'alcool, et des résidus en quantité suffisante pour produire 7 kilogrammes de viande.

Il y a donc quelque intérêt a examiner de près les pratiques de cette industrie nouvelle, et à se demander dans quelle mesure elles réalisent les conditions théoriques de multiplication de la levure que nous avons établies dans les chapitres précédents. Ces conditions sont de donner à la levure le contact de l'air dans un liquide très nutritif. Comme, pour obtenir ce dernier, on emploie du maïs et des céréales, nous avons, pour étudier la fabrication des moûts, les notions théoriques et pratiques qui nous ont déjà servi dans les chapitres précédents. Examinons à cette lumière l'un quelconque des procédés adoptés dans les fabriques de levure; nous choisirons celui qui a été indiqué par M. Ed. Schubert, et qui donne de bons résultats.

Procédé de Ed. Schubert. — 1° *Maltage.* — Le malt renfermant plus de diastase qu'il n'en faut pour saccharifier sa fécule, on emploie, par économie, pour la préparation des moûts, un mélange de malt concassé et d'une céréale, dans la proportion de 1 du premier pour 3 de seigle égrugé très fin et simplement bluté. 600 kilogrammes de ce mélange sont additionnés, dans une cuve-matière, de 1,070 litres d'eau à 70°, et rapidement brassés, à la pelle, jusqu'à ce qu'il ne reste pas de grumeaux, et que le tout forme une pâte homogène et assez épaisse, qu'on abandonne à elle-même pendant vingt à trente minutes, après l'avoir additionnée de 1 kilogramme de levure mise en suspension dans l'eau.

Cette addition de levure est inexplicable, et il faut sans doute la considérer comme une de ces pratiques bizarres que l'on trouve dans toutes les fabrications empiriques, et auxquelles on tient d'autant plus qu'on les comprend moins et aussi qu'elles coûtent moins. La levure introduite est en effet bientôt tuée par l'élévation de température à laquelle on va soumettre la masse pour y déterminer la saccharification de l'amidon.

On fait pour cela arriver 9 hectolitres d'eau à 80-90° et on brasse longtemps

et rapidement pour bien mélanger. On atteint ainsi dans la masse une température de 63-66°, passablement inférieure, comme on voit, à celle qu'on réalise pendant la saccharification du moût de bière. C'est qu'ici la formation de la dextrine doit être sacrifiée à la formation d'une quantité de sucre aussi grande que possible, parce que la partie de ce sucre qui ne sert pas à la nourriture de la levure donne de l'alcool, qui entre comme élément important, ainsi que nous l'avons vu plus haut, dans l'économie de la fabrication. La dextrine ne donnerait pas les mêmes résultats, et le fabricant a dû par suite se mettre dans les conditions où il a le maximum de sucre et le minimum de dextrine dans le temps le plus court. Peut-être aurait-il intérêt à diminuer encore davantage la proportion de dextrine, soit par l'action d'un acide, soit par une plus longue durée de saccharification à plus basse température, mais il n'est pas sûr, d'un autre côté, que la dextrine ne soit pas pour la levure un aliment, tout en n'étant pas fermentescible. Tous les procédés publiés recommandent de ne pas pousser la saccharification à l'extrême, et ce conseil qui va si directement en apparence contre l'intérêt du fabricant, doit avoir sa raison d'être.

2° *Saccharification et refroidissement.* — Le mélange chauffé à 63-66° est abandonné pendant trois heures dans la cuve-matière, qu'on recouvre de son couvercle. On agite toutes les demi-heures. On peut alors soutirer par le double fond une bouillie claire qu'on fait refroidir sur les bacs. Ici se place une des pratiques les plus spéciales de la fabrication. Il est admis, dans les brasseries, comme dans les distilleries de grains, que le moût ne doit séjourner sur les bacs que le moins longtemps possible, et s'y refroidir très rapidement. Il s'agit en effet d'éviter dans la mesure du possible la formation, dès les premiers moments, d'acide lactique, funeste en ce qu'il peut gêner plus tard la bonne fermentation de la bière, ou vicier le goût du produit. L'expérience a appris au contraire qn'il était bon de laisser séjourner longtemps sur les bacs et d'y soumettre à un refroidissement plus lent le moût destiné à nourrir la levure.

On a cherché très loin les raisons de cette pratique. On a dit que l'acide redissolvait une partie des matières glutineuses du moût et augmentait par suite la quantité d'aliments disponibles, qu'il décomposait certains éléments du moût et les transformait en matériaux plus assimilables, qu'il mettait en liberté de l'acide phosphorique pour la levure, etc. La vraie raison est sans doute ce fait que nous connaissions déjà, que la levure végétale pousse mieux dans un liquide un peu acidulé, sans rien prendre à l'acide, uniquement par suite de la réaction du liquide.

C'est cette réaction acide qu'on recherche en laissant le moût sur les bacs pendant 3 ou 4 heures, jusqu'à ce qu'il s'abaisse environ à 40°-48°. Des fabricants plus avisés ont réalisé une économie de temps en refroidissant plus vite, et en ajoutant au moût, amené à la température convenable, un millième ou demi-millième d'acide sulfurique, ce qui conduit absolument aux mêmes résultats. Il faut remarquer que ce moût, provenant en partie de céréales non maltées, est en moyenne moins acide que le moût de bière ordinaire, qui lui-même, comme nous l'avons vu, ne l'est que très faiblement.

Le moût, amené à la température de 40-48°, est introduit dans la cuve à fermentation, et additionné d'un mélange d'eau froide et de moût clair de façon à être

ramené à 25°-30°. Il est bon que cette dernière addition amène la proportion des matières sèches à celle de l'eau employée à être de 1 à 5. Elle devra donc être d'environ 10 hectolires, qu'on formera d'un mélange de deux tiers d'eau froide et d'un tiers de moût épuisé, provenant d'une opération antérieure et amené à être aussi clair que possible. L'introduction de ce moût est dictée par la préoccupation de donner assez de nourriture au ferment. Il est probable qu'il est très inutile à cet usage, et qu'il n'agit, s'il agit, que par la réaction acide qu'il amène. D'un autre côté, s'il a été le siège de fausses fermentations, il peut nuire à celle où on l'emploie. Il serait sans doute sage de renoncer absolument à cette pratique et d'étendre seulement le moût d'eau froide.

2° *Fermentation.* — Le moût refroidi est alors additionné de levure dans la proportion de 1 kilogramme pour 100 kilogrammes de matière. Quelquefois on se contente de verser dans la masse du liquide la levure délayée tout d'abord dans une certaine quantité de moût. D'autres fois, ce qui vaut mieux, on prépare, pour délayer cette levure, un moût spécial, fait avec du malt pur, et assez concentré. Une fermentation active s'y développe. Quand elle est dans son plein, on ajoute le tout à la masse principale qu'il s'agit de mettre en fermentation. Il est facile de comprendre que cette levure jeune, active, en plein fonctionnement, et aérée à nouveau pendant le mélange, agira autrement qu'une levure en repos et toujours un peu inanitiée. Il y a à gagner non seulement du côté de la rapidité d'action, mais aussi sans doute du côté de la puissance de multiplication de la levure.

La cuve à fermentation n'est pas remplie, de façon à laisser de la place pour la mousse qui se produit, et à en éviter le déversement par-dessus les bords. La récolte commence dix à douze heures après la mise en levain, lorsque les bulles gazeuses, soulevées à la surface du liquide, ont perdu l'aspect transparent qu'elles avaient à l'origine, et deviennent troubles, opalescentes, comme de la mousse de lait, à cause des nombreux globules que le liquide tient en suspension. On écume alors la mousse avec une écumoire plate jusqu'à ce qu'il ne remonte plus de levure à la surface.

Cette dernière opération semble de toutes la plus défectueuse. Au point de vue de l'aération, elle ne s'éloigne pas notablement des conditions de fabrication des bières françaises par fermentation haute, que nous indiquions en commençant, si même elle ne leur est pas inférieure. La levure n'a pas à sa disposition assez d'oxygène pour pousser activement. Il est vrai qu'elle transforme en alcool le sucre qu'elle ne consomme pas directement, et que cet alcool a une valeur. Mais en admettant que cette valeur soit supérieure à celle de la levure, le fabricant a évidemment intérêt à choisir, et à devenir fabricant de levure ou fabricant d'alcool, suivant ce qu'il y trouve de bénéfices. S'il choisit d'être fabricant de levure, il faut qu'il se mette dans des conditions telles qu'il obtienne le maximum de rendement en levure, en se contentant du minimum du rendement d'alcool, puisque les résultats de la grande pratique, d'accord avec ceux de la théorie, montrent que ces deux fabrications sont exclusives l'une de l'autre.

Pour cela, il a évidemment intérêt à faire des cultures, non en profondeur, dans un vase à fermentation, comme dans le procédé que nous venons de

détailler, mais dans des cuvettes plates à très grande surface, ou même dans des tonneaux tournant autour de leur axe, de façon à multiplier autant que possible le contact fécond de la levure, du sucre et de l'air. Tout changement dans cette direction serait nécessairement accompagné d'une augmentation notable dans le rendement en levure.

Nous avons vu, en effet, au chapitre XX, qu'en ensemençant de la levure dans une cuvette plate au contact d'un moût sucré, M. Pasteur avait pu obtenir, dans des conditions réalisables dans la grande industrie, un poids de levure représentant à l'état sec un tiers du poids du sucre. La levure renfermant environ au moins 75 p. 100 d'eau, son poids à l'état humide représentait donc plus que le poids du sucre.

Les chiffres que nous avons donnés plus haut, au sujet du rendement à Maisons-Alfort ne donnent que 9 kilogrammes de levure pour 100 kilogrammes de céréales employées. Les conditions dans lesquelles se fait la saccharification sont telles que lorsqu'elle est terminée, on peut admettre que ces céréales ont donné environ 50 p. 100 d'hydrates de carbone fermentescibles ou utilisables par le ferment. On devrait donc pouvoir, et cela serait sans doute facile, obtenir 50 kilogrammes de levure pressée par 100 kilogrammes de matière employée, et il est probable que ce chiffre pourrait être dépassé.

4° *Dessiccation de la levure.* — Quoi qu'il en soit, il s'agit maintenant de séparer du liquide qui la baigne, et d'offrir au commerce, sous une forme d'un emploi facile, la levure obtenue. On la transvase du cuvier où l'on a recueilli les écumes après les avoir tamisées, dans une grande cuve à moitié remplie d'eau froide. On agite bien et on laisse ensuite reposer de six à huit heures, au bout desquelles on trouve d'ordinaire la levure déposée au fond. Elle se dépose d'autant plus vite qu'elle est meilleure, plus jeune et plus active. Il n'est pas probable qu'il y ait là des questions de variation de densité ; il n'y a sans doute en jeu que des variations dans les attractions capillaires entre l'eau et les globules. Du moins il suffit d'un peu d'alun pour activer le dépôt, comme dans la clarification des eaux argileuses. L'action de la glace produit le même effet.

Quand la levure est déposée, on fait écouler, au moyen d'un robinet convenablement placé, ou d'un siphon flotteur, l'eau surnageante, et l'on verse le résidu dans une poche en toile, d'où sort un liquide d'abord très trouble, mais qui va en s'éclaircissant de plus en plus. On termine l'égouttage soit à la presse, soit par un turbinage. On obtient une masse pâteuse, qui bien préparée, présente les caractères suivants.

Elle forme une masse homogène d'une couleur tirant plus ou moins vers le jaune clair, ayant la consistance d'une pâte flexible, ne collant guère aux doigts, et se laissant facilement diviser en petits morceaux ou arrondir en boulettes. Elle présente une odeur aromatique de fruits. Elle se délaye facilement dans l'eau. Quand elle s'altère, elle devient gluante, sa couleur tire vers le brun. Elle a une odeur acide qui rappelle un peu celle du fromage mûr, et elle se laisse difficilement mettre en suspension dans l'eau.

L'habitude s'est malheureusement répandue dans l'industrie de mélanger cette levure avec de la fécule de pomme de terre, dans une proportion qui peut aller jusqu'à 70 p. 100 du poids de la levure. On donne comme raison que la

levure ainsi traitée se dessèche mieux et se conserve plus facilement. La chose est bien douteuse; ce qu'il y a de plus sûr, c'est qu'on réalise ainsi un bénéfice illicite et qu'on masque en partie les défauts de fabrication. La plus simple inspection microscopique suffit du reste à découvrir la fraude, qui est très gênante quand on emploie cette levure falsifiée comme matière première d'expériences délicates.

Conservation de la levure. — La levure pressée est livrée au commerce, soit en morceaux de un demi-kilogramme, enveloppés dans du papier d'emballage, soit en sacs de 10 à 25 kilogrammes qui vont surtout dans les distilleries. La fabrique de Maisons-Alfort a introduit l'emploi de petites boîtes de métal léger, ou la levure, bien pressée, n'a le contact de l'air que par sa partie supérieure et se conserve plus longtemps. Mais il faut toujours l'employer le plus vite possible, et n'attendre jamais pendant l'été plus de trois ou quatre jours, plus de six à huit pendant l'hiver.

Il y a des cas où on est obligé de se poser le problème de la conservation d'une levure pendant un temps plus long. Dans les petites brasseries où l'on ne brasse pas tous les jours, et où la fabrication, s'il survient des pluies d'été, s'arrête quelquefois pendant une semaine, on peut d'ordinaire se contenter de conserver la levure épaisse qu'on a retirée du dernier brassin dans un vase de bois, recouvert, placé au lieu le plus froid de la cave.

Il faut seulement, au moment du remploi, s'assurer qu'elle ne répand aucune odeur de piqué, et lui faire subir la pratique familière aux brasseurs, qui consiste à verser d'un peu haut d'un baquet dans un autre, et en l'étalant autant que possible en surface au contact de l'air, la levure qu'on va remettre en œuvre. Cette aération, surtout si on l'opère dans un liquide sucré, où la fermentation a commencé, assure aux globules une vitalité qui leur permet de prendre le pas sur les faux ferments dont ils pourraient s'être mélangés pendant le repos qu'ils ont subi.

La levure doit être quelquefois conservée plus longtemps, et par exemple pouvoir aller d'une année à l'autre. Cette nécessité se présente lorsque le fabricant possède un type de bière d'été ou d'hiver, que modifierait un changement dans la levure. Les précautions ci-dessus seraient alors insuffisantes.

Döbereiner recommande alors de faire un sirop épais avec la levure bien lavée et une quantité suffisante de sucre. J'ai trouvé cette pratique excellente. Balling mêle la levure avec de la farine et du charbon pulvérisé, ou encore du noir d'os, et dessèche doucement ce mélange à l'ombre. Une autre pratique, répandue dans un certain nombre de brasseries, consiste à mélanger la levure avec du houblon, à laisser égoutter le mélange, puis à le presser, et à le diviser enfin en boulettes de la grosseur du poing, qu'on dessèche à l'ombre. La levure peut ainsi vivre plus d'un an sans perdre de ses propriétés. J'ai eu entre les mains une levure chinoise, faite d'un mélange desséché de levure et de plâtre, auquel on avait mélangé des graines de cumin. Je n'ai rien su sur l'époque de sa préparation, mais elle était sûrement très ancienne quand elle m'est arrivée, et je l'ai conservée plus de deux ans sans la voir périr. La levure ainsi mise en masse, et protégée jusqu'à un certain point contre le contact de l'air, ne

subit pas une destruction aussi rapide que celle que nous avons étudiée sous ce point de vue au chapitre XXIII, et qui, du reste, devait peut-être sa mort rapide à ce qu'elle avait été conservée à l'étuve.

Purification des levures de brasserie. — On a cherché dans ces dernières années à faire concurrence aux levures pressées au moyen des levures de brasserie purifiées par un moyen convenable. La prédominance de plus en plus grande des brasseries à fermentation basse fait qu'on a été conduit à traiter surtout la levure basse. Ce dont il faut surtout la débarrasser, c'est de la matière résineuse et amère du houblon, qu'un lavage à l'eau n'enlève pas. On la fait disparaître en mettant la levure, convenablement lavée et tamisée pour la débarrasser de ses plus grosses impuretés, en contact pendant dix minutes ou au plus un quart d'heure avec une lessive de soude. On sature au bout de ce temps avec de l'acide sulfurique, de façon à laisser au méange une certaine acidité. La levure se dépose alors très vite au fond du vase : on décante le liquide surnageant, on lave et on traite ensuite la levure comme dans la fabrication de la levure pressée.

BIBLIOGRAPHIE

A. Belohoubek. — *Studien uber Presshefe.* Prague, 1876, J. Otto.
L. Von Wagner. — *Hefe und Gährung.* Weimar, 1877.
Otto. — *Landwirthschaftliche Gewerbe.* I, p. 595.
Krupski. —Wochenblatt fur Land-und Forstwirthschaft. *Beilage zum Pester Lloyd,* 1875, p. 277.
Payen. — Sur la levure viennoise. *Bulletin des séances de la société centrale d'agriculture,* 1867, p. 37.
Trommer. — *Landwirthschaftliches Centralblatt* de A. Milda.
Ostersetzer. — Uber Verunreinigungen der Bierhefe. *Dinglers polyt. journal,* liv. 190.
Divis. — *Zeitschrift fur Industrie,* 1874, p. 217.
O. Brefeld. — Uber die Alkoolgahrung. *Landwirtschaftliche Jahrbucher,* 1874, III, p. 1.
Mayer. — Uber das Verhaltniss zwischen Zuckerumsatz und Hefeneubildung. *Landwirths. versuchs.,* von prof. Dr F. Nobbe, t. XVI, 1873.

CHAPITRE XLIII

MYCODERMA ACETI

Fidèles au plan que nous nous sommes tracé, nous avons maintenant à faire l'étude des transformations que subit l'alcool pour arriver à sa gazéification complète. Ainsi que nous l'avons fait remarquer au chapitre XXVII, ce corps semble incapable de subir une fermentation avec dégagement gazeux, produite par des êtres anaérobies, se développant dans l'intérieur de ses solutions diluées. Mais il peut, sous l'action d'êtres aérobies, subir des combustions plus ou moins profondes.

L'une d'elles est connue depuis longtemps dans l'industrie comme aboutissant à la formation de l'acide acétique, suivant l'équation

$$C^4H^6O^2 + 4O = C^4H^4O^4 + 2HO.$$

Mais elle n'est pas la seule. Il en existe une autre moins complète, caractérisés au point de vue purement chimique par l'équation

$$C^4H^6O^2 + 2O = C^4H^4O^2 + 2HO,$$

et qui donne de l'aldéhyde. Il y en a enfin une beaucoup plus complète qui aboutit, comme le montre l'équation

$$C^4H^6O^2 + 12O = 4CO^2 + 6HO,$$

à une transformation complète en eau et en acide carbonique.

Toutes ces transformations, réalisables ensemble ou séparément par le jeu des forces chimiques, peuvent aussi, comme nous allons le voir, se produire ensemble ou séparément par le jeu de forces physiologiques. Mais pour les bien séparer, nous envisagerons d'abord la plus importante, celle qui conduit à la production du vinaigre.

Fermentation acétique. — On sait depuis bien longtemps que les liquides alcooliques exposés à l'air deviennent du vinaigre, et cette substance, à raison de la facilité avec laquelle elle se produit, doit avoir été connue aussi anciennement que le vin, et avoir entravé, comme elle le fait encore aujour-

d'hui, les opérations et les calculs des vignerons de l'antiquité. Elle a été de tout temps un assaisonnement recherché, et sa fabrication a été se perfectionnant lentement à travers les âges pour aboutir à deux procédés principaux. L'un d'eux est surtout usité en France, et voici, d'après une description de Chaptal, comment on l'appliquait au commencement du siècle à Orléans, ville qui a toujours eu une réputation méritée pour ses vinaigres :

« On emploie des tonneaux qui contiennent à peu près 400 litres. On préfère ceux qui ont déjà servi, et on les appelle *mères de vinaigre*. Ces tonneaux sont placés sur trois rangs, les uns sur les autres ; ils sont percés à leur partie supérieure, sur la paroi verticale du fond qui est en avant, d'une ouverture de 55 millimètres de diamètre, laquelle reste toujours ouverte.

« D'un autre côté, le vinaigrier tient le vin qu'il destine à l'acétification dans des tonneaux dans lesquels il a mis une couche de copeaux de hêtre, sur lesquels la lie fine se dépose et reste adhérente. C'est de ces tonneaux qu'il soutire le vin très clarifié pour le mettre en vinaigre.

« On commence à verser dans chaque mère 100 litres de bon vinaigre *bouillant*, et on l'y laisse séjourner pendant huit jours. On mêle ensuite dix litres de vin dans chaque mère, et on continue à en ajouter tous les jours une égale quantité, jusqu'à ce que les vaisseaux soient pleins. On laisse alors séjourner le vinaigre pendant quinze jours. On ne vide jamais les mères qu'à moitié, et on les remplit successivement, ainsi que nous avons déjà dit, pour convertir du nouveau vin en vinaigre.

« Pour juger si la mère travaille, les vinaigriers sont dans l'usage de plonger une douve dans le vinaigre et de la retirer aussitôt. Ils voient que la fermentation marche et est en grande activité quand le sommet mouillé de la douve présente de l'écume ou fleur de vinaigre, et ils ajoutent plus ou moins de vin nouveau et à des intervalles plus ou moins rapprochés, selon que l'écume est plus ou moins considérable. »

Aujourd'hui la pratique est la même; seulement, au lieu de vinaigre bouillant on se sert de vinaigre ordinaire, mais avec la précaution de le prendre le plus fort et le plus limpide possible. La mise en train d'une mère nouvelle était d'ailleurs, il n'y a pas encore bien longtemps, la difficulté principale de la fabrication, et les fabricants évitaient de leur mieux cette éventualité. Dans les ateliers bien conduits, elle était d'ailleurs très rare, et une mère marchant bien était un capital qu'on se transmettait de génération en génération.

Ce procédé, qui fournit d'excellents produits, a l'inconvénient d'être long, et de ne bien s'appliquer qu'à certains liquides. En Allemagne, on suit, depuis Schultzenbach, une méthode plus expéditive. Dans une pile de tonneaux qu'on a défoncés, et à laquelle on donne 3 à 4 mètres de hauteur, on dispose des copeaux de hêtre, et on fait écouler lentement à la partie supérieure de la colonne des liquides alcooliques. On prend de préférence ceux qui sont pauvres en matières albuminoïdes, et on les additionne de quelques millièmes d'acide acétique. Un courant d'air, arrivant par des couronnes d'ouvertures que portent ces tonneaux leur à partie inférieure, parcourt en sens inverse la colonne de copeaux, et le liquide, largement exposé à son influence, s'acétifie peu à peu. Une portion de l'alcool et de l'acide acétique est bien perdue par suite de

l'élévation de température à l'intérieur des tonneaux, et du courant d'air qui y circule, mais en revanche l'opération est rapide, et, après deux ou trois passages sur les copeaux, le vinaigre est fait.

Ces deux pratiques, si différentes l'une de l'autre, avaient autrefois une explication commune, qu'il avait fallu rendre un peu vague pour l'appliquer aux deux cas. Edmond Davy avait découvert en 1821 que le platine très pulvérulent, le noir de platine, présentait la singulière propriété de devenir incandescent lorsqu'on l'humectait avec de l'esprit de vin, et de continuer à rougir tant qu'il restait de l'alcool. Pendant cette combustion, l'alcool se transformait en acide acétique. En voyant un corps poreux produire cette transformation, on avait naturellement conclu que, dans la fabrication du vinaigre, l'acétification était due aussi à des corps poreux, aux copeaux de hêtre dans le procédé allemand, aux écumes ou fleurs de vinaigre mentionnées par Chaptal dans le procédé français.

L'existence de ces fleurs avait dû faire naître, et a fait naître en effet, après la publication du mémoire où Cagniard-Latour avait vu, dans la fermentation produite par la levure de bière, l'action d'un être vivant, la pensée que l'acétification n'était aussi qu'un effet dû aux végétations superficielles. Cette assertion ancienne, déjà combattue par Berzélius, fut en effet renouvelée par Turpin et Kutzing, mais sans aucune preuve à l'appui, et l'opposition puissante de Liebig la fit bientôt abandonner. Toutes les discussions se concentrèrent sur le rôle comparatif des copeaux de hêtre, envisagés uniquement comme corps poreux, et celui des matières organiques qu'il fallait ajouter à l'alcool pour obtenir du vinaigre dans le procédé d'Orléans. Quant à la mère de vinaigre, nom dont on désignait à peu près indifféremment le tonneau d'acétification ou les matières muqueuses qu'on y trouvait au fond ou à la surface du liquide, son rôle était aussi confus que l'objet auquel elle s'appliquait.

Comment des substances aussi dissemblables qu'un copeau de hêtre, les masses blanches gélatineuses qu'on rencontrait dans le vinaigre, ou les sucs végétaux qu'on mêlait au vin, pouvaient-elles avoir la même action? L'exposé des doctrines émises snr ce sujet a perdu de son intérêt depuis que M. Pasteur a montré qu'elles étaient toutes inexactes.

Mycoderma aceti. — Il a fait voir en effet que toutes les fois qu'un liquide s'acétifiait, il y avait à sa surface un petit végétal, un être organisé, en voie de développement, que, le végétal absent, toute acétification disparaissait, que, le végétal mort, toute acétification s'arrêtait. C'était le même ordre de faits et de conséquences que pour la levure de bière. Nous ne nous y arrêterons pas.

Ce qui nous intéresse surtout, c'est la description de ce microbe et l'étude de ses propriétés. M. Pasteur décrit celui qu'il a observé sous la forme de chapelets d'articles, en général étranglés vers leur milieu, dont le diamètre, un peu variable suivant les conditions dans lesquelles la plante s'est formée, est moyennement de $1^{\mu},5$. La longueur de l'article est un peu plus du double, et comme il est un peu étranglé en son milieu, on dirait quelquefois une réunion de deux petits globules, surtout quand l'étranglement est court; quand le microbe est en couche un peu serrée, cet aspect apparent de globules isolés se prononce da-

vantage, et il est très accusé sur les préparations un peu vieilles. Mais, à l'origine, on trouve dans toute leur netteté les formes que présente la fig. 73.

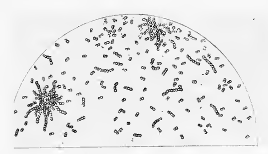


Fig. 73. — *Mycoderma aceti.*

La multiplication a lieu par allongement de chacune des moitiés de l'article et segmentation transversale. C'est de là que viennent les chapelets. Pour les voir dans toute leur beauté, avec la régularité de structure et les formes onduleuses et élégantes qu'ils affectent, il faut les faire développer sur quelques centimètres cubes de liquide, placés dans une cuve dont le fond est fait d'une lamelle de verre extrêmement mince. Quand la plante est en voie de multiplication, on enlève avec une pipette la presque totalité du liquide. Le voile descend peu à peu sans se disloquer, et quand il est assez près du fond du vase, on l'examine par-dessous, à l'aide d'un microscope à réflexion. On voit alors des amas d'articles d'où partent dans toutes les directions de charmants chapelets.

Tous ces chapelets finissent par se rejoindre, et forment bientôt à la surface un voile uniforme, d'aspect doux et velouté. Le développement se fait tellement vite, lorsque les conditions de température et de milieu sont convenables, qu'on peut, en déposant une quantité imperceptible de semence sur un liquide contenu dans une cuve de 1 mètre carré de surface, voir, en vingt-quatre heures, toute la surface couverte. En supposant qu'il n'y ait qu'une couche de cellules, cela donne pour la cuve 300 milliards d'articles produits dans ce court intervalle de temps.

Ce voile, à l'origine, est plus ou moins uni; il est très facile à briser, mais ses fragments se laissent difficilement mouiller par le liquide; une baguette de verre le troue, et en emporte, en se retirant, une partie qui la quitte facilement pour s'étaler à la surface d'un nouveau liquide où on la plonge. C'est même ainsi que les ensemencements se font le mieux. Quand le voile vieillit, il s'épaissit de plus en plus, après s'être ridé et comme veiné de traînées plus blanches, sur les points où il est vu en épaisseur. Il devient plus difficile à briser. Une baguette de verre le retire par fragments, sous forme de membranes grasses au toucher, glissantes, et toujours assez difficiles à mouiller. Ces propriétés sont typiques pour le microbe que M. Pasteur a toujours rencontré dans ses expériences, et qu'il a appelé *mycoderma aceti*.

Mais ce végétal ne semble pas toujours identique à lui-même, et il y en a probablement autant d'espèces que d'espèces de levures. J'ai indiqué en 1876 l'existence d'un mycoderme, agent d'acétification comme le premier, mais for-

mant un voile plus sec, plus fin, et se colorant même quelquefois des couleurs des lames minces. Ce voile ne se plisse pas, mais se recouvre d'ondulations croisées à arêtes vives, et rappelle alors la surface d'un gâteau de miel. Semé sur divers liquides, il se reproduit avec les mêmes caractères.

J'ai aussi rencontré un autre mycoderme donnant des voiles très bien développés, mais d'un pouvoir acétifiant presque nul. M. Mayer a décrit une forme qui donne des peaux gélatineuses épaisses, douées d'un pouvoir acétifiant très énergique, et qui lui a paru différente de celles auxquelles se rapporte la description et la figure classiques publiées par M. Pasteur. M. Wurm a observé, de son côté, d'autres formes en apparence différentes de celles qui précèdent. L'une, formant une peau épaisse, visqueuse et grasse, était en globules qui, jeunes, étaient juxtaposés en rangées et devenaient gélatineux en vieillissant. *A priori*, rien ne distingue cette forme de celle du *mycoderma aceti* de M. Pasteur, qui, lui aussi, devient gélatineux avec le temps. Un autre mycoderme, étudié par M. Wurm, était un *bacillus* de longueur variable, plus ou moins large.

M. Boutroux a encore signalé un mycoderme que nous retrouverons comme facteur de la fermentation gluconique, et qui semé sur des liquides alcooliques, les transforme en vinaigre. Enfin, j'ai signalé aussi, et nous retrouverons plus tard, un microbe qui fait de l'acide acétique avec le sucre. Tous ces faits prouvent qu'il y a sans doute un grand nombre d'êtres qui peuvent oxyder plus ou moins complètement les liquides organiques avec lesquels ils sont en contact, et s'arrêter dans cette oxydation à un terme commun, l'acide acétique, de même que beaucoup de cellules vivantes peuvent s'arrêter au terme alcool dans la fermentation des sucres. Mais parmi ces êtres, nous avons surtout à envisager les plus actifs, et nous revenons ainsi à celui de M. Pasteur, qui de tous a été le plus étudié.

Culture du mycoderma aceti. — Le meilleur moyen pour se procurer de la semence de ce mycoderme, est d'abandonner au contact de l'air un liquide à la fois alcoolique et acide, comme par exemple un mélange d'un volume de vin rouge ou blanc ordinaire avec deux volumes d'eau et un volume de vinaigre, ou bien encore un volume de bière, un volume d'eau et un volume de vinaigre. Les proportions de ces mélanges peuvent du reste être variées sans grand inconvénient; l'important est qu'ils contiennent environ 1 1/2 à 2 p. 100 d'acide acétique, et à peu près autant d'alcool, dans un liquide relativement pauvre en matières organiques.

L'ensemencement de ces mélanges se fait quelquefois par une voie singulière. Il est à peu près impossible d'exposer au contact de l'air, dans une étuve chauffée, un liquide à odeur acétique, sans y voir apparaître, au bout d'un temps d'ordinaire très court, la mouche du vinaigre (*Musca cellaris L.*), qui vit sur les liquides vinaigrés et en porte partout les germes au moyen de ses pattes. J'ai vu beaucoup d'ensemencements *spontanés* ne réussir que par elle, et elle joue certainement un grand rôle dans la diffusion du ferment acétique.

D'autres fois, le germe qu'on cherche se trouve, soit dans les poussières que l'air charrie ou a déposées sur les vases dont on se sert, soit dans le vinaigre employé. Dans ce vinaigre, les germes sont souvent répandus dans toute la

masse du liquide, et il en résulte alors un mode de développement particulier dans le liquide d'ensemencement. Au lieu de former à sa surface une pellicule mince et grasse, le mycoderme se présente sous la forme d'une masse mucilagineuse, immergée, mais placée pour ainsi dire à fleur du liquide, et grandissant peu à peu de façon à atteindre la surface où elle pousse comme des nodosités visqueuses, qui se relient peu à peu les unes aux autres et finissent par constituer une peau humide, gonflée, gélatineuse et glissante. Quand elle est devenue trop lourde, cette peau tombe, elle est remplacée par une nouvelle et ainsi de suite, jusqu'à ce que le liquide soit complètement épuisé de ses éléments assimilables.

Ce mode de développement est fréquent dans les flacons des pharmaciens, fréquent aussi dans les vinaigreries mal conduites. Quand il intervient dans une opération industrielle, l'acétification marche mal, les mères du procédé d'Orléans se remplissent de masses gélatineuses, les copeaux du procédé allemand s'engluent et ne fonctionnent plus. C'est précisément pour éviter sa formation que l'on emploie pour nourrir les mères, soit du vinaigre bouillant comme le voulait Chaptal, soit du vinaigre filtré sur des copeaux de hêtre et parfaitement limpide, comme on le fait encore aujourd'hui. Il faut aussi avoir soin de disloquer le moins possible la couche acétifiante, car le mycoderme immergé tend de plus en plus, à mesure qu'il vieillit, à prendre cette forme gélatineuse.

Son aspect, au microscope, change peu pendant cette transformation. Les articles sont peut-être un peu moins étranglés, sensiblement de même dimension que les autres, mais ils sont reliés par un mucus translucide qui, en vieillissant, prend l'aspect d'une membrane homogène, et qui, desséché, donne une pellicule très résistante. Ce fait de développement gélatineux est fréquent chez les microbes, nous en trouverons de nombreux exemples. Les causes qui l'amènent et la manière dont il se produit sont encore très obscures.

Quand on n'obtient que ce mycoderme gélatineux sur les liquides d'ensemencement spontané, ce qu'il y a de mieux à faire est de les remplacer par un autre liquide bouilli. Mais il est généralement possible de trouver en un point de la surface, une portion, d'ordinaire plus opaque que le reste, où le développement est surtout superficiel. On prend dans cette portion, ne fut-ce qu'avec la pointe d'une épingle, un peu de semence, qu'on porte sur un liquide nouveau. On réussit ainsi assez rapidement à isoler le voile doux, uni ou ridé, du mycoderme superficiel que nous avons décrit en premier lieu. Quand on l'a obtenu, on peut l'ensemencer, le voir se développer et faire du vinaigre sur un liquide ne renfermant que de l'alcool et de l'acide acétique cristallisable, comme éléments hydrocarbonés, et des phosphates d'ammoniaque, de magnésie, de potasse et de chaux comme éléments minéraux, ce qui supprime toute contestation à propos du rôle des matières organiques sur lesquelles on le fait vivre d'ordinaire. Mais sur ces liquides purement minéraux, la plante n'a pas la même vigueur que quand elle a à sa disposition des matières albuminoïdes. Le voile est moins ferme, plus délicat, plus cassant. Il vaut donc mieux, pour étudier les propriétés de ce mycoderme, l'ensemencer sur un liquide organique. Celui qui, d'après M. Pasteur, se prête le mieux aux opérations au laboratoire est le suivant :

Eau de levure de bière à 2-5 millièmes de matière dissoute. . . .	100 parties
Acide acétique cristallisable.	1 à 2 —
Alcool ordinaire.	3 à 4 —

Quelques taches de *mycoderma aceti* semées sur le liquide, à une température de 20° environ, en recouvrent toute la surface, quelle que soit son étendue, dès le lendemain ou le surlendemain, sous la forme d'un voile uni dont nous allons étudier les propriétés.

Propriétés du mycoderma aceti. — Comme c'est ici le premier exemple que nous rencontrons d'un être purement aérobie, nous insisterons un peu sur les moyens d'en faire l'étude.

Dans une fiole à fond plat, de 3 litres environ, comme celle de la fig. 74,

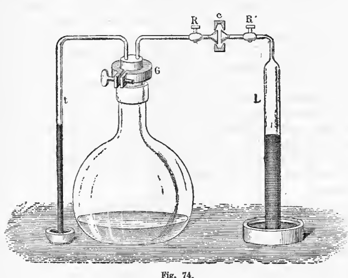


Fig. 74.

introduisons environ 100^cc d'un liquide ayant la composition de celui qui a été indiqué plus haut, et ensemençons à la surface une quantité inappréciable de semence de mycoderme jeune, sous forme de voile, puis fermons la fiole au moyen de la garniture métallique qu'elle porte et qui la met à l'origine en communication avec le manomètre *t*. Nous verrons, dès le lendemain, s'étendre sur toute la surface un voile très mince et uni. Dès que le voile se montre, on constate sur le manomètre une absorption gazeuse qui, faible à l'origine, va en augmentant avec les progrès du voile, et arrive bientôt à un maximum auquel elle reste stationnaire. Dans une expérience de M. Pasteur, l'absorption était déjà considérable dix-huit heures après l'ensemencement, et entièrement achevée après trente-six heures.

Les indications du manomètre sont complétées par l'analyse du gaz de la fiole, qu'on peut faire sans disloquer le voile ni changer la fiole de place, en adaptant à la tubulure métallique, au moyen d'un collier à gorge *c*, le tube L,

qui n'est autre que le laboratoire de l'eudiomètre Regnault. Ce tube est à l'origine rempli de mercure. En ouvrant le robinet R', puis le robinet R, ce mercure s'écoule et aspire un peu d'air de la fiole; on ferme les robinets quand on juge la prise de gaz suffisante. Le tube L est alors séparé de la fiole et adapté à l'eudiomètre pour l'analyse du gaz. Dans l'expérience que je cite, ce gaz avait la composition suivante:

Acide carbonique	1,17
Oxygène	0,00
Azote par différence	98,83

Tout l'oxygène avait donc disparu; et il n'y avait qu'une très faible quantité d'acide carbonique, provenant sans doute plutôt de la vie de la plante que d'une combustion directe par l'oxygène des matériaux carbonés de la liqueur. La plante est donc un agent de transport de l'oxygène. Elle le porte sur l'alcool pour en faire de l'acide acétique, car on a trouvé dans l'expérience que le titre acide de la liqueur avait passé de 1,1 à 2,2 p. 100. La quantité totale d'acide acétique formée réellement est inférieure à celle qu'aurait dû produire l'oxygène absorbé dans la fiole. C'est qu'une partie de l'oxygène est employée à faire d'autres produits que l'acide acétique, des corps neutres, de l'aldéhyde, etc., mais l'acide acétique est le produit dominant. On trouve encore un peu d'acide succinique qu'on isole par les mêmes moyens que pour la fermentation alcoolique. L'alcool n'est du reste pas la seule substance que notre mycoderme puisse oxyder. M. Riche a observé, en traitant de l'esprit de bois dilué par la méthode allemande, la formation d'acide acétique ne renfermant que de faibles quantités d'acide formique, et conservant l'odeur désagréable des huiles qui souillent l'esprit de bois du commerce.

Une dernière particularité doit nous frapper dans l'expérience de plus haut Le poids du voile, à l'état sec, est toujours très faible. Je me suis assuré qu'il pouvait ne pas atteindre 0gr,5 pour 1 mètre carré de surface, tout en étant parfaitement continu et régulier. En supposant qu'il ait été tel dans l'expérience de M. Pasteur, on voit qu'il ne devait pas peser plus de 5 milligrammes; or, il y a eu 550cc d'oxygène consommés, pesant 825 milligrammes. La plante sert donc d'agent de transport, en trente-six heures, à 165 fois son poids d'oxygène, et ce chiffre est encore trop faible, puisque nous ne faisons entrer en ligne de compte que le poids définitif. C'est un chiffre très notablement supérieur à celui de la levure aérobie, qui lui-même était déjà si élevé.

Étude du procédé par les copeaux de hêtre. — Nous allons tout de suite tirer de cette notion l'explication de quelques faits restés longtemps embarrassants. Nous avons vu que le procédé allemand d'acétification consistait à faire écouler lentement, dans des tonneaux remplis de copeaux de hêtre, rassemblés sans ordre ou disposés par assises après avoir été roulés comme des ressorts de montre, de l'alcool, étendu d'eau de manière à ne plus marquer que 8 à 12° à l'alcoomètre, et additionné de quelques millièmes d'acide acétique. Comment agissent ces copeaux? Ils ne cèdent évidemment rien de leur matière, car il y en a qui acétifient d'une façon presque indéfinie. D'un

autre côté, lorsqu'on les retire d'une cuve fonctionnant bien, ils montrent une surface tellement nette que dans un mémoire destiné à combattre les opinions de M. Pasteur sur ce sujet, Liebig avait pu citer l'exemple de copeaux, en fonction depuis vingt-cinq ans, et jugés, par le fabricant et par lui-même, exempts, même au microscope, de toute couche mycodermique. Beaucoup de ces copeaux sont en effet tels qu'on dirait qu'ils viennent d'être lavés avec soin.

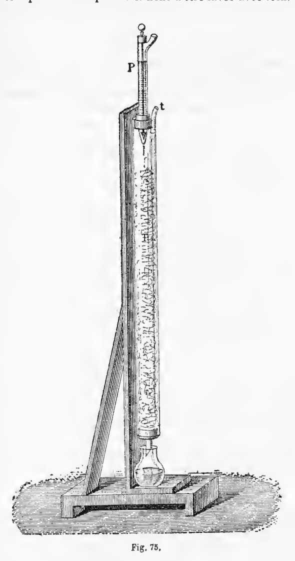


Fig. 75.

Il suffit pourtant de les racler légèrement avec une lame de couteau et d'examiner la raclure au microscope pour reconnaître qu'un bon nombre portent à leur surface, au moins par places, une couche de *mycoderma aceti.* C'est ce qu'ont parfaitement montré, après M. Pasteur, les travaux de Mayer et de Knierym

en Allemagne. Ils sont donc, non pas le ferment, mais le support du ferment. Ils multiplient les surfaces, et rendent plus facile l'oxydation; mais, dans ce rôle, ls pourraient jusqu'à un certain point être remplacés par du verre ou de la porcelaine.

Il est facile de prouver en effet que, réduit à lui-même, le copeau n'a aucune action oxydante. Si, après en avoir disposé une pile dans le tube cylindrique de verre T, fig. 75, on fait couler lentement, au sommet de la colonne, et à l'aide d'une pipette à obturateur P, un liquide alcoolique comme celui des vinaigreries allemandes, on trouve que le titre acétique ne varie pas, malgré le passage en grande surface au contact de l'air; cet air peut se renouveler constamment en passant par le tube inférieur d'écoulement, qu'on fait très large et taillé en biseau, et par le tube supérieur *t*. On peut remplacer sans plus de succès la pile de copeaux par une corde ou mieux par un large ruban tendu; mais fait-on couler une seule fois, dans ces tubes, un liquide déjà en voie d'acétification et chargé de germes, ceux-ci s'arrêtent et se développent dans les rugosités des copeaux, la colonne devient acétifiante, et cette propriété, une fois acquise, y persiste indéfiniment.

A une condition pourtant, sur laquelle nous devons insister, c'est que l'on ne fera jamais passer sur la colonne que des liquides très faiblement chargés de matières organiques. Tels sont les flegmes, étendus d'eau et d'une très petite quantité de bière, du procédé allemand. Si l'on se sert de moût de bière, de vin, de jus d'orge, ou d'autres liquides organiques fermentés, le mycoderme prend un développement trop abondant, couvre les copeaux d'une couche gélatineuse dont le pouvoir acétifiant devient, comme nous l'avons vu, très faible ou même nul. Toutes ces notions, devenues scientifiques depuis le travail de M. Pasteur, résultent aussi de la pratique de la grande industrie. On comprend même qu'elles aient longtemps aveuglé les fabricants sur le véritable rôle du mycoderme, puisqu'on observait une acétification énergique là où les copeaux étaient intacts, et une marche très mauvaise dans les tonneaux où apparaissaient les masses gélatineuses. Cette contradiction apparente a disparu aujourd'hui, et le fabricant peut voir qu'il doit se tenir entre deux extrêmes. Il ne doit pas employer des liquides organiques trop chargés, il doit d'un autre côté fournir à la plante un peu de matière albuminoïde, ou au moins un sel d'ammoniaque et des phosphates alcalins et terreux. Un mycoderme alimenté avec une solution d'alcool pur finirait par périr par épuisement, au bout d'un temps plus ou moins long, comme un animal qu'on ne nourrirait que d'une seule espèce d'aliments.

Étude du procédé français. — Les liquides qui ne peuvent pas se laisser acétifier par le procédé allemand conviennent au contraire parfaitement au procédé français. A la condition de ne jamais disloquer le voile quelquefois imperceptible formé à la surface des tonneaux, et de n'introduire jamais de germes dans toute la masse du liquide, le fabricant d'Orléans peut obtenir une fabrication régulière, dont la marche dépendra, il est vrai, de la température extérieure, mais suivant une loi dont la moindre expérience lui apprendra bientôt à tenir compte.

Les écueils qu'il aura à éviter tiennent à un ordre de faits différents de ceux que nous avons détaillés jusqu'ici, et sur lequel nous devons donner quelques détails, à cause de leur importance à la fois théorique et pratique.

Le *mycoderma aceti* n'est pas seulement un agent d'oxydation de l'alcool. Il peut se développer, plus péniblement il est vrai, sur du vinaigre entièrement privé d'alcool, et en brûle alors l'acide acétique, qu'il transforme en eau et en acide carbonique; c'est ce dont il est facile de s'assurer au moyen d'une expérience dans une fiole à fond plat, comme celle de la p. 507, dans laquelle on fait vivre le microbe sur un mélange d'acide acétique étendu et d'eau de levure. On trouve que l'air de la fiole perd son oxygène, qui est remplacé par un volume égal d'acide carbonique, et que la diminution de l'acide dans la liqueur est en rapport avec l'oxygène absorbé et l'acide carbonique produit; on a sous les yeux les éléments de la vérification complète de l'équation

$$C^4H^4O^4 + 8O = 4HO + 4CO^2.$$

On a dès lors le droit de se demander si cette combustion d'acide acétique n'a pas lieu en même temps que celle de l'alcool. L'expérience que nous avons citée, p. 508, montre que cela n'a pas lieu, au moins dans les premiers moments, puisque nous n'avons pas trouvé d'acide carbonique en quantités sensibles dans le gaz du ballon. Ce n'est que lorsque l'alcool est rare ou absent que la combustion de l'acide acétique commence. Si au moment où celle-ci est en train, on rajoute un peu d'alcool, on voit que l'acide est respecté et l'alcool brûlé. L'emploi de la fiole de plus haut permet d'étudier facilement ce phénomène, on le comprendra sans peine, si l'on songe aux deux cas extrêmes qu'elle nous a permis d'étudier, et l'on trouve avec elle que la transition dans le choix de la substance combustible se fait avec une soudaineté remarquable.

Au point de vue pratique, ces faits se résument en ceci, c'est que le fabricant de vinaigre ne doit jamais laisser s'épuiser d'alcool le liquide de ses cuves. Il trouve à cela l'avantage d'éviter les pertes, et, en outre, un autre avantage que nous retrouverons tout à l'heure.

Au point de vue théorique, nous retrouvons là, sous une autre forme, les phénomènes d'action élective des microbes sur les substances qu'on présente à leur action. Mais ici cette action élective s'exerce dans des conditions plus précises que dans tout ce que nous avons encore vu. Tant qu'il y a de l'alcool, l'acide acétique reste intact. Dès qu'il n'y a plus d'alcool, l'acide est brûlé; remet-on de l'alcool dans le liquide, le phénomène change encore une fois. L'acide est respecté et l'alcool se transforme à nouveau en acide acétique.

« Ces faits, dit M. Pasteur, méritent au plus haut degré d'attirer l'attention. Ils nous offrent le curieux spectacle de petits organismes qui fixent l'oxygène de l'air, tantôt sur un principe, l'alcool, tantôt sur un autre, l'acide acétique; exclusivement sur le second, si le premier est absent, exclusivement sur le premier malgré la présence du second, tant que le premier ne fait pas défaut.

« Pourrait-on rencontrer un exemple de combustion plus voisin de la combustion respiratoire, qui s'effectue, elle aussi, par de petits organismes, les globules du sang. Nous voyons également dans ce dernier phénomène tel principe brûlé complètement et ramené à l'état d'eau et d'acide carbonique, tel autre s'ar-

rêter à un degré de combustion intermédiaire, comme il arrive pour l'urée et l'acide urique.

« Mais la comparaison peut aller plus loin, et, de même que dans certaines circonstances, les globules du sang deviennent malades et que les matériaux de l'organisme ne sont plus comburés de la même façon, d'où résultent des produits d'excrétion divers, et, par suite, des désordres plus ou moins graves, de même nous allons voir nos petits organismes mycodermiques s'altérer dans certains cas si profondément qu'ils ne pourront plus porter la combustion jusqu'au terme acide acétique. Quelles importantes et trop souvent dangereuses modifications ne doit pas amener dans l'économie un changement de cet ordre s'appliquant aux globules du sang. Dans bien des maladies, c'est d'eux que doit procéder le mal. »

Altérations dans la structure et les fonctions du mycoderma aceti. — Il arrive en effet quelquefois que l'action du *mycoderma aceti* dévie complètement. A la suite de l'addition au liquide d'un alcool trop concentré, qui, à raison de sa faible densité, s'étale à la surface du liquide et ne se mélange pas rapidement à la masse, quelquefois à la suite de l'addition d'une substance dont le *mycoderma aceti* ne s'accommode pas, comme l'esprit de bois ou l'alcool amylique, on voit se former, au lieu d'acide acétique, des produits à odeur suffocante, parmi lesquels domine l'aldéhyde, et qui, chose assurément bien curieuse, sont identiques aux produits que fournit la combustion incomplète de l'alcool ou de l'éther par le noir de platine. Le voile, dans ces conditions, semble subir une altération profonde. Il est moins consistant et semble se délayer dans le liquide. Au lieu de conserver son aspect ordinaire, qui a quelque chose d'un peu translucide, il devient opaque, blafard, toujours prêt à se détacher des bords du vase et à tomber dans le liquide par lambeaux. Au microscope, les articles paraissent altérés, crispés, fanés, avec çà et là comme des globules graisseux qu'on prendrait pour des produits d'exsudation.

Il y a toujours un peu de ces produits dans les fabrications qui marchent le mieux. En entrant dans une étuve où se fabrique du vinaigre, on sent autre chose que l'odeur franche de l'acide acétique, qui agit sur le nez et non pas sur les yeux; au contraire, les produits du voile altéré excitent le larmoiement au plus haut degré.

Là par conséquent est encore un écueil de fabrication, que l'on évitera en faisant avec précaution les additions nouvelles d'alcool dans le liquide en voie d'acétification. Un certain nombre de pratiques industrielles sont évidemment inspirées par une connaissance confuse des faits que nous venons d'exposer, et nous pourrions déjà, à l'aide de ce que nous savons, étudier au point de vue technique et à celui du rendement les procédés de fabrication du vinaigre. Mais il vaut mieux étudier tout d'abord les propriétés d'un autre mycoderme non moins curieux que le précédent, et qui vient se placer tout naturellement, au point de vue théorique comme au point de vue pratique, à la suite du mycoderme du vinaigre.

BIBLIOGRAPHIE

CHAPTAL. — *Chimie appliquée aux arts*, t. III, 1807.

ED. DAVY. — *Journal de Schweigger*, t. I, 1821.

DOBEREINER. — *Journal de Schweigger*, t. VIII, 1823.

BERZÉLIUS. — *Traité de chimie*, t. VI, 1829 à 1833.

TURPIN. — Mémoire sur la cause et les effets de la fermentation alcoolique et acéteuse. *Mém. de l'Acad. des sc.*, t. XVII.

KUTZING. — *Répertoire de chimie*, 1838.

LIEBIG. — *Traité de chimie organique*, t. I, 1841.

DUMAS. — *Chimie appliquée aux arts*, t. VI, 1843.

R. THOMSON. — Sur la nature et les effets de la mère de vinaigre. *Ann. der Chem. und Pharm.*, t. LXXXIII, 1852.

PASTEUR. — Mémoire sur la fermentation acétique. *Annales de l'École normale supérieure*, t. I, 1864.

LIEBIG. — Sur la fermentation et les sources de la force musculaire. *Ann. der Chem. und Pharm.*, t. CLIII, 1870.

DUCLAUX. — Fermentations. Article du *Dictionnaire des sciences médicales* du Dr Dechambre, 1877.

A. MAYER. — *Untersuchungen über die alkoholische Gahrung*. Heidelberg, 1869.

DE KNIERYM. — *Landwirtschaftliche Versuchstation.*, t. XVI, 1873.

E. WURM. — Sur la fabrication du vinaigre au moyen des bactéries. *Dinglers polyt. journal*, t. CCXXXV, 1880.

CHAPITRE XLIV

MYCODERMA VINI — INDUSTRIE DU VINAIGRE

Il y a, dans l'industrie vinaigrière, une pratique que nous avons indiquée, qui est trop répandue pour être indifférente, et sur les raisons profondes de laquelle nous n'avons encore rien appris, c'est celle qui consiste à aciduler le liquide qu'on veut soumettre à l'acétification. Pourquoi faire ainsi rentrer dans la fabrication du vinaigre déjà fait? Il y a là en apparence une perte de temps et une immobilisation de capital qu'on devrait éviter.

L'expérience montre à ce sujet que lorsqu'on ensemence du *mycoderma aceti* sur un liquide alcoolique non acide, surtout si ce liquide est, comme le vin ou la bière, riche en matières organiques dissoutes, la semence ne se développe que très difficilement, et est bientôt écrasée par une espèce non ensemencée, le *mycoderma vini*, dont les germes sont universellement répandus, peut-être plus encore que ceux encore du *penicillium glaucum*. C'est elle qui forme à la surface des vins restés en vidange dans des bouteilles ou des tonneaux, ces pellicules blanches, qui, d'abord presque invisibles, s'épaississent peu à peu et se rident de la manière la plus prononcée, au fur et à mesure que la place leur manque pour s'étendre horizontalement, au gré de la puissance extraordinaire de reproduction des articles qui les composent.

L'aspect que présentent au microscope ces *fleurs du vin* est tout à fait différent de celui du mycoderme du vinaigre. Ce sont, quand on s'adresse à une pellicule jeune, des globules ovales et turgescents, portant en général dans leur intérieur une ou deux vacuoles à contours assez nets, que la fig. 76 a un peu trop forcés, réunis à l'origine en chapelets bourgeonnants comme de la levure haute, disjoints ensuite et isolés. Lorsque le mycoderme vieillit, ses formes deviennent plus irrégulières, quelques-unes s'allongent en prenant quelquefois des formes anguleuses et bizarres. On en trouve quelques exemples dans la fig. 77. Le dessinateur en a exagéré le nombre à cause de la tendance qu'on a, quand on dessine au microscope, à dessiner l'exception. La levure représentée était en effet de la levure jeune. Il faut, pour en faire la comparaison avec celle de la fig. 76, ne pas oublier que, dans la seconde, le grossissement est un peu plus faible.

C'est sur cette espèce que M. de Seynes à découvert, en 1868, le mode de reproduction par spores que nous avons signalé à propos de la levure de bière. Le *mycoderma vini* donne aussi des spores, quand on le fait vivre dans un milieu plus pauvre ou même exclusivement aqueux. Ces spores s'isolent encore par résorption de la cellule mère et deviennent libres; si on les rapporte dans un milieu plus riche, elles se mettent à bourgeonner et reviennent à leur premier mode de multiplication, le seul qui se manifeste dans les conditions où nous nous supposons placés pour notre étude.

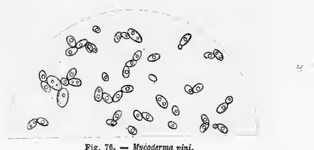


Fig. 76. — *Mycoderma vini.*

La fonction de ce mycoderme est encore de porter l'oxygène de l'air sur les substances dissoutes dans le liquide sur lequel il se développe. D'après M. Mayer et M. Pasteur, il peut aussi brûler des matières hydrocarbonées diverses, des acides organiques. Mais il nous intéresse ici par l'action qu'il peut exercer sur l'alcool ou l'acide acétique.

Avec l'alcool, il exerce une combustion complète, sans s'arrêter comme le *mycoderma aceti* au terme intermédiaire acide acétique. Il le transforme en une seule fois en acide carbonique et en eau. Aussi les vins où il se développe deviennent peu à peu *plats*. M. Mayer a observé pourtant, passagèrement, la formation d'un peu d'aldéhyde, reconnaissable à son odeur; mais cette action est faible, et nous avons le droit de la négliger pour n'envisager que le phénomène de combustion complète. L'absorption de l'oxygène nécessaire à l'activité de la nutrition du mycoderme, le dégagement d'acide carbonique qui en est la conséquence, et le développement de chaleur sont quelquefois considérables. Si la culture a lieu sur une cuvette plate recouverte d'une lame de verre, on voit celle-ci se recouvrir en quelques instants d'une buée qui se résout bientôt en grosses gouttes d'eau. La quantité d'oxygène utilisée est si grande qu'on ne voit jamais apparaître à la surface de ce voile aucune moisissure, bien que l'air y apporte à chaque instant des germes vivants. Le terrain est si favorable que, comme dans les cultures d'aspergillus sur du liquide Raulin, la plante étouffe toutes ses congénères, et ne les laisse s'implanter que lorsqu'elle devient elle-même languissante.

Avec l'acide acétique, les phénomènes sont les mêmes; il y a aussi combustion complète, mais un milieu un peu acide est évidemment moins favorable à la plante, et les phénomènes se produisent avec bien moins d'intensité.

Autonomie du mycoderma vini. — La ressemblance extérieure du

mycoderma vini avec la levure et son apparition presque fatale sur tous les liquides fermentés devaient faire naître et ont fait naître en effet l'idée que le mycoderme était une autre forme, une forme aérobie, dirait-on aujourd'hui, des levures ordinaires. Ainsi qu'on doit s'y attendre, des expériences superficielles avaient confirmé cette manière de voir, en montrant qu'un liquide sucré où l'on introduisait de ces fleurs du vin se mettait à fermenter, et inversement, qu'un liquide alcoolique ne renfermant en apparence que de la levure se couvrait de fleurs.

Pour tirer une conclusion en toute certitude, il faut opérer sur des cultures pures. Il est très facile de cultiver le *mycoderma vini* très pur sur du moût de vin ou de bière, contenu dans les ballons à deux cols que nous connaissons. Quand il est bien développé, on l'immerge à l'aide d'une agitation violente, car ces pellicules grasses se laissent difficilement mouiller, et on constate qu'il n'y a alors jamais apparition d'une fermentation régulière et, par suite, que le mycoderme du vin ne subit aucune transformation en ferment alcoolique.

Cependant, si l'on observe avec soin le liquide dans les premiers jours après l'immersion des cellules du mycoderme, on y voit s'élever d'une façon lente, mais continue, de petites bulles d'acide carbonique, et on peut y retrouver, au bout de quelque temps, des traces très faibles d'alcool. Si, d'un autre côté, on étudie au microscope, au moment de cette fermentation lente, une goutte du liquide tout chargé des cellules disjointes du mycoderme, on constate des changements faibles mais sensibles dans l'aspect de ces cellules. Elles ont grossi, leur protoplasma s'est modifié, plusieurs ont poussé de petits bourgeons. La partie droite de la fig. 77, dessinée au même grossissement que l'autre moitié,

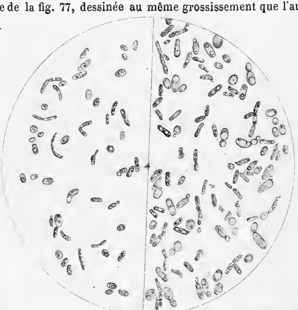


Fig. 77. — *Mycoderma vini.*
Moitié gauche, Semence, vivant en surface.
Moitié droite, Cellules submergées dans un liquide sucré.

donne une idée assez exacte des différences d'aspect du mycoderme submergé et du mycoderme superficiel.

Toutefois, il est visible que les actes de nutrition intérieure et les mutations qui en résultent dans les tissus se font d'une façon pénible chez le mycoderme immergé; les bourgeons, quand il s'en forme, avortent promptement, et il n'y a pas génération de nouvelles cellules, ni formation de chapelets. Il paraît évident que nous avons encore là un de ces phénomènes de vie continuée dans des conditions nouvelles, que nous avons déjà souvent rencontrés, et qui se manifestent ici, comme avec une foule d'autres cellules, par une production d'alcool et d'acide carbonique, par l'apparition du caractère ferment à son aurore.

Mais il n'y a jamais dans ce cas apparition des fermentations rapides et promptes qu'on obtient si facilement, quand on ne prend pas de précautions contre l'introduction des germes de levure. De même, il n'y a jamais apparition de *mycoderma vini* sur un liquide qu'on a ensemencé avec de la levure pure. Concluons donc, comme nous l'avons fait plusieurs fois jusqu'ici, que ce mycoderme est une espèce déterminée. Nous aurions pu faire la même démonstration pour le *mycoderma aceti*, nous pourrions la recommencer pour tous les êtres que nous rencontrerons. Nous estimons que désormais la chose est inutile.

Substitutions réciproques du mycoderma aceti et du mycoderma vini. — Nous venons de voir que ces deux mycodermes ne recherchent pas les mêmes conditions de milieu. Le vin ordinaire, surtout le vin rouge, et particulièrement le vin rouge nouveau, ne donne que rarement le *mycoderma aceti* spontané, et très facilement au contraire le *mycoderma vini*. Le vin additionné de vinaigre, et de préférence les vins peu chargés de matière colorante, donnent de préférence le *mycoderma aceti*. La bière étendue de son volume d'eau donne d'ordinaire un mélange des deux mycodermes ; sans addition d'eau, le *mycoderma vini* est plus abondant.

Avec un même liquide, la facilité de développement des deux mycodermes dépend, dans une mesure très étroite, de la proportion d'acide. D'après M. Wurm, avec des mélanges de vinaigre, d'eau et d'alcool, avec 0,5, 1, et 1,2 p. 100 d'acide acétique, on obtient exclusivement du *mycoderma vini;* avec 1,6 p. 100 d'acide, il y a prédominance du *mycoderma aceti*, et avec 2 p. 100 d'acide, ce dernier se développe seul. C'est précisément pour cela que le fabricant de vinaigre est obligé d'aciduler très fortement les liquides qu'il veut acétifier.

Ces phénomènes de remplacement mutuel des deux mycodermes ont non seulement une importance industrielle considérable, ils sont aussi d'un intérêt théorique exceptionnel. Lorsqu'on a ensemencé un vin avec du mycoderme du vinaigre, et qu'il y a pris un commencement de développement, il est curieux de voir la place dont ce premier être n'a pas pris assez rapidement possession être envahie par l'autre mycoderme, qui refoule le *mycoderma aceti* et finit par le couler au fond du liquide. Mais on peut donner une forme plus frappante à ces phénomènes, en forçant un de ces mycodermes à devenir un aliment pour l'autre.

Faisons développer pour cela le *mycoderma vini* à la surface de vin ou de bière, puis, quand il est en pleine activité, siphonnons le liquide pour le remplacer par de l'eau additionnée de quelques centièmes d'alcool pur. Nous verrons aussitôt se manifester une acétification qui ira en augmentant avec le temps.

Pourquoi la couche mycodermique qui brûlait l'alcool sur le vin le transforme-t-elle en acide acétique sur ce liquide nouveau, privé de matière organique et d'éléments minéraux. L'absence de nourriture aurait-elle pour effet de changer quelque chose aux fonctions vitales du mycoderme du vin et d'atténuer ses facultés oxydantes. Cela est possible et mériterait d'être suivi. On s'explique assez bien dans cette hypothèse l'acétification qui se produit à l'origine. Mais l'activité que prend l'oxydation avec le temps résulte d'un tout autre mécanisme, de la substitution au *mycoderma vini* du *mycoderma aceti*, dont les germes écrasés, et invisibles dans le premier liquide, prennent leur revanche dans le second.

On ne les voit pas le premier jour au microscope; le lendemain on en rencontre partout. Les jours suivants, rien qu'à la vue simple, on peut constater la disparition graduelle du voile primitivement épais et ridé du *mycoderma vini*, faisant place peu à peu au voile mince, uni et de poids total beaucoup moindre, de *mycoderma aceti*, parce qu'il y a simultanément combustion de divers principes du premier. C'est une véritable résorption, accompagnée de la formation de substances plus lentes à subir la combustion, et qu'on retrouvera à l'état libre dans la liqueur. Telle est, par exemple, une matière qui réduit avec facilité, même à la température ordinaire, la liqueur de Fehling.

« Il est vraiment très curieux, dit M. Pasteur, dans son beau mémoire sur la fermentation acétique, d'assister à cette transformation et à cette nutrition d'un mycoderme par un autre, et cette circonstance me paraît mériter toute l'attention des physiologistes. Il y a là, à mon sens, l'image de la résorption d'un tissu par la production d'un autre, auquel le premier sert d'aliment, et, mieux encore peut-être, l'image de la formation du pus ou de ses globules à l'aide des matériaux du sang, ou des principes des tissus voisins. »

Nous aurons à utiliser, quand nous étudierons de plus près le mécanisme de la disparition des matières organiques mortes, ces notions, que nous venons d'établir, de parasitisme de ferments les uns sur les autres, et de remplacement d'une génération de microbes par une autre d'un poids moindre. Nous avons pour le moment à examiner, dans leurs relations avec les faits que nous venons de rencontrer, les différentes pratiques industrielles de la fabrication des vinaigres.

Procédé orléanais. — D'après les pratiques indiquées par Chaptal, pratiques qui sont encore en usage ou n'ont subi que des modifications insignifiantes, le procédé orléanais revient à ceci :

1° Mise en train des tonneaux d'acétification : cette opération importante, qui était longue autrefois et se faisait quelquefois à l'aide de pratiques bizarres, peut se faire plus sûrement et plus rapidement aujourd'hui par voie d'ensemencement, en allant prendre sur une *mère* qui marche bien, et au moyen d'une

baguette de verre ou mieux d'une spatule de porcelaine mouillée, un peu de semence qu'on porte sur la cuve à mettre en train.

2° Soutirage à des intervalles convenables d'une partie du liquide, et remplacement par du vin en quantité égale. Cette pratique a l'avantage, si les intervalles sont convenablement choisis, de ne jamais laisser le voile sans alcool comme aliment, et d'éviter par conséquent la combustion qu'exerce le mycoderme lorsqu'il n'est en contact qu'avec de l'acide acétique. Cet avantage n'est pas le seul. A la faveur de la température élevée qui règne dans la cuve, l'alcool, lorsqu'il y en a, donne avec l'acide acétique et les autres acides présents dans la liqueur, des éthers à odeurs aromatiques qui entrent pour beaucoup dans l'appréciation des caractères olfactifs et de la force des vinaigres. Ces éthers se forment dès l'origine, et leur quantité croît jusqu'à un certain maximum; mais ils sont brûlés les premiers, dès que l'alcool devient rare, comme je m'en suis assuré, et avant que l'acide acétique ne soit atteint. Il y a donc avantage à soutirer le vinaigre avant ce moment. C'est ce que permet de faire facilement le procédé d'Orléans. Lorsqu'il est bien conduit, il donne, comme on sait, des vinaigres très parfumés. Nous verrons bientôt que ces vinaigres renferment tous de l'alcool, des éthers et divers acides.

Ces bons résultats dépendent, comme on vient de le voir, de la régularité dans la fabrication. Cette régularité est à son tour en rapport avec la température, qu'il faut maintenir aussi égale que possible. On gerbe pour cela les mères dans un cellier ou un atelier qu'on chauffe. Une pièce où l'acétification marche bien se chauffe du reste elle-même par les phénomènes d'oxydation qui s'y produisent. Mais quoi qu'on fasse, les cuves ne marchent pas toutes du même pas, et elles réclament une surveillance individuelle.

Les fabricants ont pour juger si une mère travaille bien ou mal, une pratique intéressante à connaître et à rapprocher de son explication. Ils introduisent la main dans le tonneau par le trou d'air, et tâtent avec l'index la paroi verticale au niveau du liquide. S'ils sentent une humidité grasse, quelque chose comme une couche gélatineuse qui fuit sous le doigt, ils disent que le tonneau marche bien. Cette couche gélatineuse est formée de milliers d'anguillules du vinaigre. Pourquoi ce rapport entre deux faits en apparence aussi indépendants?

Ces anguillules, si fréquentes dans les vinaigres mal préparés, et que les vinaigriers d'Orléans n'éliminent de leurs produits d'expédition que par des soins multipliés, ont besoin d'air pour vivre. Dans une bouteille en repos, elles sont toutes, si elles sont un peu nombreuses, dans les couches superficielles, et périssent si l'on ferme le flacon avec un bouchon imperméable à l'air. Elles pullulent dans les tonneaux d'Orléans. Lorsqu'il s'y forme un voile bien continu donnant une acétification active, l'oxygène, mis en œuvre par la plante, ne pourrait plus venir jusqu'aux anguillules nageant dans les couches supérieures du vinaigre. Celles-ci, guidées par un de ces instincts dont nous avons vu qu'on retrouvait, dans des cas analogues, des traces jusque dans le monde des infiniment petits, vont où elles peuvent respirer, et se réunissent sur les parois du tonneau, où elles forment une couche humide, blanche, épaisse de plus de 1 millimètre, haute de plusieurs centimètres, tout animée et grouillante.

L'existence de ces anguillules peut donc devenir un témoin de la bonne marche de l'opération. Mais il est clair, d'un autre côté, qu'il ne peut pas être indifférent de voir se développer à côté du mycoderme dont on recherche la présence, un être, ayant les mêmes besoins que lui, et pouvant lui disputer quelquefois victorieusement l'oxygène. M. Pasteur a fait à ce sujet quelques expériences dont le récit est singulièrement attachant et instructif; j'en citerai une partie. Après avoir laissé se multiplier les anguillules dans une cuve en large surface, M. Pasteur ajoute, le 25 avril, un peu de vin pour obtenir de nouveau un voile mycodermique.

« Le 26, dit-il, quelques traces de mycoderme apparaissent. Le 27, elles sont plus étendues en surface, et de nouvelles se sont formées. Mais au-dessous de chacune de ces taches, je vois des paquets d'anguillules qui leur sont comme attachées et comme faisant effort pour entraîner ces portions de voile au fond du liquide. Le 28, même état des choses. Le 29, presque toutes les taches de *mycoderma aceti* ont disparu. N'est-on pas porté à croire, en présence de ces faits, à une sorte d'instinct chez les anguillules qui les porte à détruire la plante capable de les priver d'oxygène? Je ne voudrais rien exagérer, cependant, je sais que l'homme est ami du merveilleux et s'y complait volontiers. Il se pourrait que les efforts des anguillules, d'où résulte la destruction du voile, fussent simplement le résultat du mouvement que les anguillules effectuent naturellement pour se débarrasser des obstacles qui les gênent, lorsque, par l'effet de la natation, elles se trouvent enchevêtrées tout naturellement dans les replis du mycoderme. Peut-être aussi trouvent-elles dans les principes de la plante des aliments mieux appropriés à leur nutrition. La plante disparaîtrait, parce qu'elle servirait d'aliment aux anguillules; ce qui est certain, c'est que le voile entraîné au fond du liquide par les mouvements des anguillules s'y présente très souvent sous la forme d'un précipité opaque et pulvérulent, comme si les anguillules avaient séparé la matière glutineuse qui en relie les articles.

« Quoi qu'il en soit, nous voyons un voile de *mycoderma aceti* se multiplier avec peine dans certains cas, en présence des anguillules. Que ces mêmes faits se réalisent dans un tonneau-mère d'une vinaigrerie par le procédé d'Orléans, ce tonneau ne *travaillera* pas et sera dit *malade* ou *tourné*.

« Continuons l'examen de notre cuve. Le 30 avril, même état des choses. Le 1er mai, des taches nouvelles sont reformées et occupent une surface totale de 20 centimètres carrés environ. Le 2 mai, pas de développement nouveau des taches, qui ont au-dessous d'elles des paquets d'anguillules qu'on dirait toujours occupées à les détruire. Le 3, le 4, rien de nouveau. Le 5, j'aperçois dans un coin de la cuve, un voile uni bien formé, s'étendant sur toute la surface jusqu'au quart environ de la cuve. Or déjà, dans ce coin de la cuve, les anguillules ont grimpé en couche épaisse sur les parois des rebords du vase. Peu à peu, les jours suivants, le voile continue de grandir en chassant devant lui, en quelque sorte, les anguillules, qui se retirent peu à peu du liquide sans qu'il en reste trace dans le vinaigre de la cuve. Cette fois, la plante a de nouveau pris le dessus, et vaincu l'animalcule. »

Économie de la fabrication. — En résumant les faits qui précèdent,

on voit que le procédé orléanais a pour avantages de donner, au moyen d'une main-d'œuvre restreinte, un vinaigre très parfumé. Les mères étant presque closes, il y a peu d'évaporation et par conséquent peu de pertes d'alcool. Celui-ci est d'ordinaire, du reste, tellement dilué que les pertes seraient faibles, même en cuves ouvertes.

Cette dilution de l'alcool fait d'un autre côté que l'acétification n'est jamais très active. Les mères qui travaillent le mieux ne donnent guère en moyenne que 12 ou 15 litres de vinaigre par semaine pour 50 litres de liquide environ. Nous allons voir que les conditions économiques du procédé allemand sont tout autres.

Procédé allemand. — Dans le procédé allemand, on a été conduit peu à peu à remplacer les piles de tonneaux défoncés, dans lesquels on entassait, ou empilait autrefois les copeaux par des générateurs (fig. 79) auxquels on

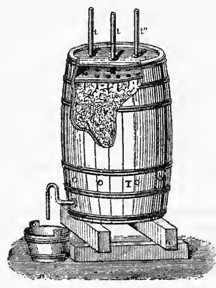


Fig. 79.

donne $2^m,50$ à 3 mètres de hauteur, dans la partie occupée par les copeaux. Au-dessus existe un compartiment où l'on introduit le liquide à acétifier, qui filtre lentement par des trous pratiqués dans le plancher du compartiment, et à moitié fermés par des brins et des nœuds de ficelle. Au-dessous des copeaux, un autre compartiment reçoit le liquide qui s'en écoule et qu'on fait remonter à la partie supérieure, quelquefois toutes les heures, jusqu'à ce qu'il soit convenablement acétifié. Des ouvertures T pratiquées au bas du générateur et des tubes *t* qui en traversent les planchers supérieurs, permettent la circulation d'un courant d'air que la haute température du générateur rend en général trop rapide.

Cette haute température est un des écueils de la fabrication. En marche ordinaire, la perte en alcool est de 20 à 25 p. 100. Il est vrai qu'elle n'est psa entiè-

rement due à l'évaporation. Une minime partie est employée aux besoins vitaux du mycoderme. Une portion un peu plus grande se perd sans donner d'acide acétique, par suite de la formation de produits neutres, comme nous l'avons déjà dit, mais la majeure partie est emportée par le courant d'air, ou bien brûlée, lorsqu'elle a déjà pris l'état d'acide acétique, par suite de l'impossibilité de graduer une action aussi intense et aussi irrégulière que celle qui s'exerce dans cette longue colonne, où toutes les proportions possibles sont réalisées dans ce mélange du corps comburant et du corps combustible. A ces désavantages, il faut ajouter les difficultés et les lenteurs de la mise en train. Il faut de six à huit semaines pour mettre en bonne voie d'acétification un générateur nouveau, et il y a à dépenser pour cela de 5 à 6 hectolitres de vinaigre. Les produits du premier mois ont un goût de bois très prononcé, que les copeaux lui communiquent. Enfin les générateurs doivent être maintenus en fonction d'une manière ininterrompue, ce qui est encore un inconvénient notable.

En échange, le procédé allemand permet l'acétification de mélanges d'alcool et d'eau à peu près purs, que le procédé orléanais ne permettrait pas d'employer. Ce dernier ne s'applique bien qu'aux vins et aux liquides similaires. Il y a donc, de ce côté, une économie notable de matières premières dans le procédé allemand.

Quand un générateur marche bien, sa production est assez grande. Dans la fabrique de M. Riemerschmidt, un générateur de $2^{m},50$ de hauteur transforme en vingt-quatre heures de $2^{lit},75$ à $3^{lit},20$ d'alcool absolu. Cela revient à l'acétification en trois jours de 1 hectolitre de vin à 9°, et en un an, de 120 hectolitres. D'après les données d'Otto, trois générateurs d'une hauteur de 3 mètres, et additionnés de liquides toutes les heures, fournissent par jour environ 120 litres de vinaigre à 4,5 ou 5 p. 100 d'acide acétique. Ce sont des chiffres comparables à ceux qui précèdent.

Procédé luxembourgeois. — Les procédés orléanais et allemand ont chacun leurs avantages et leurs inconvénients. Le procédé dit luxembourgeois a la prétention d'avoir pris aux deux ce qu'ils ont de bon. Il consiste essentiellement dans l'emploi de tonneaux remplis en totalité de copeaux, et à moitié seulement ou au tiers, du liquide à acétifier. Ces tonneaux peuvent tourner autour de leur axe, et on les fait rouler à des intervalles plus ou moins éloignés, six fois par jour d'ordinaire, de façon à éliminer la couche adhérente aux copeaux et à la remplacer par de nouveau liquide. Un courant d'air, arrivant par une ouverture de 15 millimètres de diamètre, percée suivant l'axe du tonneau, dans le fond antérieur et sortant par une soupape à obturateur placé au sommet du tonneau, près du fond postérieur, circule dans la masse des copeaux et y porte l'oxygène nécessaire. Je laisse de côté tout ce qui n'est pas essentiel, par exemple la composition des liquides, à laquelle l'inventeur ajoute à tort une grande importance. Il faut et il suffit que le mélange d'alcool et d'eau qu'on veut acétifier soit additionné d'une certaine quantité de matières organiques, intermédiaire entre celle du procédé allemand et celle du procédé français.

On voit qu'on réalise ainsi une augmentation considérable de surface sans s'ex-

poser à évaporation plus sensible que dans le procédé orléanais. De cette sorte de compromis entre les deux méthodes peuvent résulter des avantages que nous pouvons apprécier au point de vue théorique en partant de ce que nous avons dit plus haut. Ils se résument en ceci qu'on peut acétifier sans pertes sensibles, et en restant maître de ralentir ou d'interrompre la fabrication, des mélanges à peu près purs d'alcool et d'eau qu'on ne pouvait traiter jusqu'ici que par la méthode allemande. Il faut ajouter que, comme rapidité d'acétification, le procédé luxembourgeois est intermédiaire entre les deux autres.

Procédé Pasteur. — Tous les procédés que nous venons de décrire portent d'une façon évidente les traces de l'empirisme qui a présidé à leur découverte, et il était tout naturel que M. Pasteur tirât de la connaissance de la véritable cause de l'acétification, un procédé nouveau plus logique et plus expéditif que ceux qui étaient alors en usage. Ce procédé, réduit à ses caractères essentiels, revient à étaler en surface le liquide alcoolique, et à ensemencer à sa surface le *mycoderma aceti*, en maintenant le tout à une température convenable, pas trop basse pour que le mycoderme se développe bien, par trop élevée de façon à ce que l'action ne dépasse pas le but en devenant trop énergique, et que l'évaporation n'enlève pas trop de l'alcool de la liqueur. M. Pasteur a réussi, par ce procédé, à fabriquer en quelques jours du vinaigre marchand dans des cuves plates de plus de 1 mètre carré de surface.

L'industrie orléanaise s'est la première emparée de ces procédés. En 1869, M. Breton-Laugier déposait à la Société d'encouragement un mémoire, récompensé en 1870 par un prix, et dans lequel il décrivait son installation et ses pratiques nouvelles. Celles-ci reviennent à étaler dans des cuves, sous une épaisseur de 20 à 25 centimètres, des mélanges renfermant en moyenne 2 de vin parfaitement clair et 1 de vinaigre provenant d'une acétification intérieure, et à ensemencer à la surface du mycoderme jeune récemment développé et provenant d'une série de cuves précédemment mises en train. L'ensemencement se fait en enfonçant dans la cuve de semence une spatule de porcelaine ou de bois qui se charge de mycoderme. En la rapportant sur la cuve nouvelle, le mycoderme s'étale à la surface, et trente-six ou quarante-huit heures, au maximum, suffisent à l'envahissement complet. Les conditions de température et de composition du liquide doivent être telles que la couche mycodermique se plisse et se creuse de sillons profonds, comme si elle n'avait pas assez de place pour s'étendre. L'acétification est de sept à dix fois plus rapide que par le procédé orléanais.

En Allemagne, les idées de M. Pasteur n'avaient pas trouvé de terrain favorable, et ses procédés avaient été jugés peu pratiques dans le traité de la fabrication du vinaigre publié par Otto, en 1866. Ils ont pourtant été appliqués en grand pour la première fois par E. Wurm, à Breslau, en 1880. Ils servent à acétifier un mélange d'eau, d'alcool et de vinaigre, additionné de sels minéraux, et renfermant au maximum, à l'origine, 2 p. 100 d'acide et 2 p. 100 d'alcool. Ce liquide, contenu dans des cuves couvertes, où l'air pénètre par des ouvertures, est chauffé à 25° ou 30°, et maintenu dans un local à 30°. L'ensemencement se fait à la spatule, avec une pellicule âgée de deux à quatre jours. Vingt-quatre ou

trente-six heures suffisent au développement, et dès que la cuve est couverte, le liquide s'échauffe de 30° à 34° environ. L'alcool disparaît peu à peu : quand il n'en reste plus que 0,3 p. 100 environ, on en rajoute, mais de façon à ce que la liqueur n'en contienne pas plus de 0,5 p. 100, et plus la proportion d'acide augmente, plus il faut s'attacher à ne remplacer strictement, par des affusions journalières, que la quantité d'alcool transformée chaque jour.

Cette manipulation un peu compliquée, dont il n'existe pas trace dans la fabrique de M. Breton-Laugier, tient sans doute au peu de convenance du liquide d'ensemencement, et il serait probablement aisé de l'éviter.

Théoriquement, dans ce mode de fabrication, chaque centième d'alcool en volume devrait donner à très peu près un centième d'acide acétique en poids. Il n'en est jamais ainsi, l'alcool s'évapore toujours un peu, surtout pendant les deux ou trois premiers jours, quand il est plus abondant. Une autre portion est brûlée intégralement. La perte totale, due à ces deux causes et aux autres de moindre importance qui interviennent aussi, est de 10 à 15 p. 100 environ, inférieure par conséquent à celle du procédé allemand, à peine supérieure à celle de l'ancien procédé orléanais. Mais avec le procédé Pasteur, l'installation est moins coûteuse, il n'y a pas de frais de mise en train, puisqu'on peut obtenir immédiatement du vinaigre de bonne qualité, on est maître de limiter et même d'interrompre sa fabrication à la condition de conserver la semence. Enfin on sait ce qui se passe, on peut remédier de suite à toute défectuosité, sans que le reste des opérations en souffre. En résumé, ce procédé est plus simple, plus sûr, moins coûteux et plus rapide qu'aucun des autres ; cela doit suffire à assurer son succès.

Analyse des vinaigres. — D'après ce qui précède, on doit s'attendre à rencontrer dans beaucoup de vinaigres un peu d'alcool, que c'est l'intérêt du fabricant de ne pas laisser tout à fait disparaître. Nous pouvons aussi nous demander si l'acide acétique est le seul produit de l'action du mycoderme, et s'il n'est pas mélangé d'autres acides volatils.

On peut répondre à ces deux questions par le procédé suivant d'analyse. On distille un vinaigre après l'avoir exactement saturé. En général un demi-litre suffit à cette opération ; on redistille à moitié les premiers produits deux fois de suite, et on prend le titre alcoolique du liquide, à l'alcoomètre d'abord, ou mieux au moyen d'un flacon à densité, au compte-gouttes ensuite. S'il y a des produits volatils en dehors de l'alcool, les deux évaluations ne concordent pas, et sont d'autant plus différentes que la proportion de ces produits est plus notable. Les produits sont ou bien de l'éther acétique, dont nous avons signalé la formation possible, soit de l'aldéhyde. L'odeur avertit aisément à quel corps on a affaire.

Le résidu de la distillation est additionné d'acide sulfurique en quantité suffisante pour mettre en liberté tout l'acide, et distillé à moitié. Le produit acide passé à la distillation est distillé de nouveau à moitié, et ainsi cinq fois de suite. S'il y a des acides volatils en dehors de l'acide acétique, ces acides dominent, comme je l'ai montré, dans les premiers produits de la distillation. Ils se concentrent de plus en plus, tandis que l'acide acétique se dilue. D'après

les chiffres qui caractérisent la marche de la distillation de ces divers acides, et la nature de ceux que j'ai rencontrés, c'est en distillant à moitié que la séparation se fait le mieux. Si, par exemple, il n'y avait à l'origine que $\frac{1}{100}$ d'acide valérianique ou d'acide caproïque, au bout de la cinquième distillation il y en aurait 30 p. 100 dans le dernier produit distillé.

Une nouvelle distillation fractionnée de ce dernier produit, faite suivant les règles que j'ai indiquées dans un travail sur les vins, donnera la nature et la proportion approximative de l'acide mélangé à l'acide acétique.

Voici quelques résultats trouvés par cette méthode :

	Alcool par litre.	Acide acétique par litre.	Acides gras par litre.
1. Vinaigre blanc, du commerce.	3cc,1	63gr,7	0gr,2
2. — —	0 ,0	61 ,1	0 ,4
3. — —	0 ,0	66 ,1	0 ,1
4. Vinaigre rouge, du commerce.	5 ,6	49 ,4	0 ,4
5. — —	7 ,2	37 ,5	0 ,4
6. — —	2 ,9	53 ,0	0 ,2
7. Vinaigre blanc, deux ans.	3 ,1	56 ,7	0 ,5
8. — nouveau.	4 ,0	48 ,8	0 ,5
9. — —	0 ,2	47 ,4	0 ,3
10. — —	0 ,2	43 ,5	0 ,1

Les vinaigres 7, 8, 9 et 10 avaient été fabriqués par le procédé Pasteur, les numéros 7 et 8 avec des vins des vignobles situés sur la Loire, comprenant des vins d'Orléans, de la Sologne blésoise et de Nantes, les numéros 9 et 10 avec les mêmes vins alcoolisés avec des alcools d'industrie. Je les dois à l'obligeance de M. Breton-Laugier. On voit que partout il y a, en proportions sensibles, des acides gras de degrés supérieurs à l'acide acétique, et que j'ai reconnu, en les isolant par des distillations fractionnées, être un mélange d'acide valérianique et d'acide caproïque où le dernier domine. Comme ces acides n'existent pas dans les vins, il faut bien qu'ils soient un produit de l'action du mycoderme.

BIBLIOGRAPHIE

PASTEUR. — Mémoire sur la fermentation acétique. *Ann. de l'École normale supérieure*, t. I, 1864.

— *Études sur la bière*. Paris, Gauthier-Villars, 1876.

DE SEYNES. — *Bulletin de la Société botanique*, 1868.

MAYER. — *Untersuchungen über die alkoholische Gahrung*. Heidelberg, 1869.

OTTO. — *Traité de la fabrication du vinaigre*. 1re éd., 1866; 2e éd., 1876.

E. WURM. — Fabrication du vinaigre au moyen des bactéries. *Dinglers polyt. journal*, t. CCXXXV, 1880.

PAUL PFUND. — *Dinglers polyt. journal*, t. CCXI, 1874, et *Moniteur scientifique*, juin 1874.

BRETON-LAUGIER. — Rapport par M. de Luynes. *Bulletin de la Société d'encouragement*, 15 juillet 1870.

CHAPITRE XLV

FERMENTATION LACTIQUE DES SUCRES

Nous venons d'étudier pour les sucres un mode de destruction qui en fait de l'eau et de l'acide carbonique, après les avoir fait passer par les degrés intermédiaires d'alcool et d'acide acétique. Nous avons à envisager maintenant une voie nouvelle, celle qui passe par les termes acide lactique et acide butyrique.

Cette voie est moins bien explorée que la précédente, et ne paraît pas aussi simple. Il semble qu'il y ait bien des êtres divers doués de la propriété de transformer le sucre en acide lactique, et l'acide lactique en acide butyrique. D'un autre côté, cet acide lactique et cet acide butyrique peuvent résulter de la transformation de bien d'autres substances que le sucre. Enfin l'acide butyrique peut quelquefois provenir directement du sucre, sans passage par l'état intermédiaire d'acide lactique. De là sûrement bien des ferments divers, et bien des fermentations différentes qu'on est exposé à confondre les unes avec les autres, si l'on n'applique pas à cette étude, avec rigueur et méthode, les règles que nous avons indiquées dans le courant de ce livre comme les seules pouvant servir à caractériser un ferment ou une fermentation. Pour éviter de suite toute ambiguïté, nous désignerons sous le nom de *ferment lactique* le petit être, décrit pour la première fois par M. Pasteur, comme présidant à la transformation du sucre en acide lactique, et sous le nom de *ferment butyrique* le vibrion décrit aussi par M. Pasteur, comme opérant la transformation du lactate de chaux en butyrate de chaux. Cette définition étroite est nécessaire, car nous verrons que les mots fermentation lactique des sucres, ou fermentation butyrique du lactate de chaux ne définissent pas les ferments. On a décrit et figuré en Allemagne, comme transformant le sucre en acide lactique, des êtres tout différents du ferment signalé par M. Pasteur. D'autre part, M. Pasteur a signalé lui-même, dans ses études sur la fermentation butyrique, des irrégularités d'allures et des variations de produits entre des expériences consécutives, qui ne peuvent s'expliquer qu'en admettant que les êtres qui intervenaient étaient légèrement différents les uns des autres, tout en vivant aux dépens de la même substance et en la transformant à peu près de la même façon.

La transformation du sucre en acide lactique est un fait connu depuis longtemps. L'acide lactique a précisément été découvert par Scheele, en 1780, dans

le lait aigri, et reconnu comme un acide particulier par Berzélius, en 1807. Bientôt après, Braconnot le retrouvait dans les eaux-mères des amidonniers, dans la jusée des tanneurs, dans le riz abandonné en fermentation sous l'eau, dans le jus fermenté de betteraves, dans l'eau de fermentation des pois et haricots bouillis, dans l'eau sûre du levain des boulangers. Pelouze et Gay-Lussac avaient même proposé de le retirer du jus de betteraves, et Liebig du liquide de fabrication de la choucroute. Mais la source la plus commode était encore celle de Scheele, le lait aigri, et l'on doit à Boutron et Frémy, à Pelouze et Gélis, à Bensch, divers procédés propres à amener une transformation rapide en acide lactique du sucre de lait, ou même d'autres sucres ajoutés au lait.

Tous ces procédés, dans lesquels la mise en train se faisait avec du lait aigri, du vieux fromage pourri, même de la viande gâtée, étaient longs et peu sûrs. Quand ils aboutissaient, ils ne donnaient l'acide lactique que perdu dans un mélange complexe du milieu duquel on le retirait péniblement et avec pertes. Voilà pour la pratique. Quant à la théorie de l'opération, il était évidemment difficile de trouver, pour appuyer les idées de Liebig, mieux que cette fermentation, où l'influence des matières organiques en décomposition apparaissait si évidente, et où la cause productrice, le ferment, était si difficile à démêler du chaos de matières amorphes au milieu duquel il était perdu.

Il existe pourtant un ferment lactique, comme il existe un ferment alcoolique, et c'est M. Pasteur qui l'a découvert. En examinant une fermentation lactique produite dans un mélange de lait sucré et de craie, on peut voir quelquefois, au-dessus du dépôt formé au fond du vase, des taches d'une substance grise que l'examen au microscope ne permet guère de distinguer du caséum désagrégé. Son poids est toujours très faible comparé à celui de la matière azotée qu'on s'est cru obligé de mettre dans le liquide pour le faire fermenter. Quelquefois même elle est tellement mélangée au dépôt de caséum et de craie, qu'il n'y a pas lieu de croire à son existence. C'est pourtant elle qui joue le principal rôle.

Prenons en effet un peu de ce dépôt grisâtre, semons-le dans de l'eau de levure additionnée de 50 à 100 grammes de sucre par litre et de craie, et portons le tout à l'étuve à 30 ou 35°. Dès le lendemain, une fermentation vive et régulière se manifeste. Le liquide se trouble, la craie entre peu à peu en dissolution sous l'influence de l'acide lactique qui se produit, son acide carbonique se dégage, et si l'on n'en a pas trop mis, elle peut disparaître en entier. Il ne reste alors au fond du vase qu'une matière analogue à celle qu'on a semée, accrue et développée seulement, comme l'aurait fait de la levure de bière dans une fermentation alcoolique.

Pris en masse, le dépôt des fermentations lactiques ressemble en effet à de la levure. Il a seulement une consistance un peu plus visqueuse et une couleur plus grise. Au microscope, l'aspect est tout différent : ce sont de tout petits articles immobiles, étranglés en leur milieu, de $1^{\mu},6$ de diamètre, ayant quelquefois la forme du *mycoderma aceti*, quelquefois plus amincis et comme étirés l'un sur l'autre en leur point de jonction, et en différant toujours en ce qu'ils sont plus turgescents, plus pleins, plus réfringents, et mieux modelés. La figure 80, les représente sous leur forme jeune, isolés, en groupes et en chaînes, mélangés à des cristaux aciculaires de lactate de chaux. Quand ils vieillissent, ils

semblent se disloquer, s'étalent en amas confus, et tapissent le champ du microscope d'un pointillé délicat, analogue à celui de certains précipités amorphes.

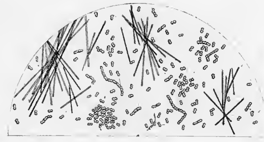


Fig. 80. — *Ferment lactique avec cristaux de lactate de chaux.*

Conditions de développement du ferment lactique. — Comme tous les ferments, celui-ci a ses exigences. Sa nutrition minérale exige les mêmes éléments que celle de la levure de bière. Il peut aussi se développer dans un mélange purement minéral, et s'en accommode même mieux que le ferment alcoolique, car nous avons vu qu'il envahissait souvent, sans ensemencement, les liquides sucrés additionnés d'un sel d'ammoniaque et d'éléments minéraux, et qu'il y supplantait la levure introduite. Comme éléments hydrocarbonés, il accepte tous les sucres capables de subir la fermentation alcoolique. Il y a même cette remarque à faire que les sucres qui subissent le plus difficilement la fermentation alcoolique sont ceux qui se transforment le plus facilement en acide lactique et inversement. Le sucre de lait, par exemple, subit beaucoup plus aisément que le glucose l'action du ferment lactique. Un liquide organique sucré, du jus de fruits par exemple, abandonné à lui-même, se peuplera plus facilement de levure. Le lait s'aigrira de préférence, et c'est pour cela que la fermentation lactique a surtout été étudiée dans le lait.

Avec ce liquide, d'après M. Ch. Richet, l'activité de la fermentation croît avec la température jusquà 44°; de 44 à 52°, elle reste à peu près constante. A partir de 52°, elle décroît à mesure que la température augmente. Elle est éteinte longtemps avant l'ébullition.

Le ferment lactique est un aérobie. Il épuise rapidement d'oxygène le liquide dans lequel il vit et a besoin d'en trouver de nouveau à la surface. Je me suis assuré qu'il ne se développait pas dans l'acide carbonique.

Quand toutes les conditions favorables sont réunies, une solution de sucre additionnée de ferment s'acidifie de suite, et la quantité d'acide produit correspond à peu près exactement, poids pour poids, à la quantité de glucose disparu, comme l'indique l'équation

$$C^{12}H^{12}O^{12} = 2C^6H^6O^6.$$

Mais l'action s'arrête peu à peu, gênée par l'acide produit. Le ferment n'aime pas en effet les liqueurs acides, et, d'après M. Richet, se refuse à tout développement quand on l'ensemence dans du lait où l'on a ajouté assez d'acide chlorhydrique ou sulfurique pour représenter 1 gramme par litre d'acide lactique.

Aussi est-il toujours utile d'ajouter, dès l'origine, du carbonate de chaux en proportion de la quantité de sucre sur laquelle on opère. L'acide lactique en dégage peu à peu de l'acide carbonique. Si l'on s'en tenait aux caractères extérieurs, on croirait avoir sous les yeux une fermentation alcoolique. La fermentation lactique n'est pas moins prompte que sa congénère, lorsque les conditions sont favorables. Il faut remarquer pourtant que, pour la même quantité de sucre, elle donne moitié moins d'acide carbonique, suivant l'équation

$$C^{12}H^{12}O^{12} + 2CaO,CO^2 = 2(CaO,C^6H^5O^5) + 2HO + 2CO^2.$$

Lorsqu'on n'ajoute pas de carbonate de chaux, le degré d'acidité auquel le ferment lactique suspend son action est variable d'un liquide à l'autre. Il peut s'élever beaucoup avec le temps dans les liquides où l'aliment azoté, nécessaire à la vie du ferment, reste en solution. Il reste très réduit, et ne dépasse guère 1,6 p. 100, avec le lait, dont l'élément azoté, la caséine, se précipite à l'état insoluble par l'action des acides. Mais, pour bien comprendre cette influence réciproque du lait et du ferment lactique, nous avons besoin d'étudier le lait, et d'entrer, à propos de sa constitution, dans des développements que nous aurons souvent à utiliser dans le courant de ce livre, et qu'il est naturel de donner ici.

Constitution physique et chimique du lait. — Pour étudier la constitution du lait, nous supposerons que nous avons introduit, dans un vase stérilisé, du lait naturel débarrassé de tout germe vivant. Nous connaissons déjà les moyens à employer pour cela. Nous savons qu'on peut, à la condition de bien flamber les vases dont on se sert, aller recueillir directement le lait au pis de la vache, ou encore, ce qui est plus sûr et revient à peu près au même, le stériliser en le chauffant à 110° dans un vase scellé. Supposons abandonné à lui-même ce vase renfermant du lait pur. L'aspect que prend ce lait, au bout de quelques semaines de repos, mérite d'être étudié de près.

Tout à fait au fond du vase, on peut voir un dépôt très peu abondant d'une substance solide qui tranche par sa blancheur sur le reste du liquide. C'est du phosphate tribasique de chaux. Examiné au microscope, il se présente comme une poussière dont les éléments ont moins de $\frac{1}{2000}$ de millimètre, et sont par conséquent de la plus grande ténuité.

Au-dessus, le liquide est troublé par un autre dépôt, beaucoup plus abondant, qui reste en suspension continue, et dont la précipitation complète semble gênée par l'état muqueux et élastique des éléments qui le composent. Son épaisseur est variable suivant des conditions que nous apprendrons bientôt à connaître. Dans un tube cylindrique, il n'occupe quelquefois pas plus du dixième de la hauteur totale, quelquefois il en constitue, au contraire, les 9 dixièmes. Ce dépôt est formé de caséum solide, et visible au microscope comme un très fin précipité granuleux, tapissant le champ de la vision d'un pointillé presque imperceptible.

Au-dessus de ce liquide que le dépôt de caséum rend plus ou moins trouble, existe un liquide translucide, bien qu'opalescent, laissant passer une lumière un

peu rougeâtre, mais assez débarrassé d'éléments solides pour permettre, sous une épaisseur de 2 à 3 centimètres, de lire des caractères d'imprimerie. Ce liquide, siphonné avec soin, précipité en blanc par les acides, se prend en masse opaque et porcelanique sous l'influence de la présure. Il renferme évidemment de la caséine en solution complète. Il y a donc dans le lait de la caséine dissoute et de la caséine en suspension.

Enfin, à la surface de notre lait s'est rassemblée la matière grasse, elle forme une couche plus ou moins épaisse suivant les laits, plus ou moins résistante suivant qu'il y a eu plus ou moins d'évaporation superficielle; nous la laisserons pour le moment de côté.

Nous ne nous attachons, pour le moment, qu'à la coexistence et aux rapports mutuels de la caséine dissoute et de la caséine en suspension. La première est toujours en beaucoup plus grande quantité que la seconde, mais les proportions entre les deux sont variables. Les acides diminuent la portion dissoute, augmentent la portion en suspension. Nous avons vu, p. 177, comment ils coagulaient le lait; avant le moment où la coagulation survient, le lait passe, à mesure que la dose d'acide augmente, par une série d'états dans lesquels la quantité de caséum en suspension augmente de plus en plus. Les premiers degrés de cette action se traduisent à l'œil par une augmentation sensible dans l'opacité du lait.

Les alcalis produisent un effet inverse. L'addition au lait de quelques gouttes d'une solution concentrée de carbonate de soude diminue la proportion de caséine en suspension et rend la masse plus transparente. Quand on opère avec du lait de Paris, presque toujours fortement écrémé, additionné d'eau et d'un peu de carbonate ou de borate de soude, on trouve des échantillons qui sans addition nouvelle, et seulement chauffés à 110 ou 115°, ce qui favorise l'attaque de la petite portion de caséine en suspension, deviennent tellement transparents lorsqu'ils ont laissé monter leur crème, qu'ils ressemblent en entier à la couche liquide opalescente que nous avons vue plus haut se former à la surface de tous les laits naturels abandonnés au repos.

Il est donc naturel de rattacher l'existence dans le lait de la caséine dissoute et de la caséine en suspension, à cette circonstance que le lait n'est ni acide ni alcalin, et que dans son état naturel, dès la sortie du pis de la vache, il bleuit le papier rouge et rougit le papier bleu très sensible. C'est là une réaction sur laquelle on a beaucoup écrit dès qu'on l'a eue constatée chez le lait, et qui ne lui est pourtant pas spéciale, attendu qu'elle est commune à un grand nombre de liquides, neutres par saturation réciproque de deux éléments de réactions contraires.

Y a-t-il dans le lait d'autres matières albuminoïdes que la caséine dissoute et en suspension? On admet d'ordinaire qu'il y a aussi de l'albumine, en se basant sur l'expérience suivante: on sature à froid le lait de sulfate de magnésie, qui provoque la formation d'un coagulum abondant, et on jette le tout sur un filtre. Le liquide qui s'écoule précipitant vers 60° par la chaleur, on admet qu'il renferme de l'albumine.

Nous avons rencontré, p. 174 de ce livre, des faits qui conduisent à une interprétation toute différente. Nous avons vu que la quantité de caséine dissoute

est fonction de la quantité de sulfate de magnésie présente et de la température, et qu'on peut, en recommençant cette même expérience à diverses températures, trouver dans le même lait les proportions d'albumine les plus variables, si l'on admet l'interprétation de plus haut. La caséine en présence du sulfate de magnésie, devient coagulable par la chaleur, comme l'albumine. Là est l'explication de l'expérience que nous venons d'indiquer, et on n'a jusqu'ici aucune raison d'admettre que le lait normal renferme une autre substance albuminoïde que le caséum dissous et le caséum en suspension.

Coagulation du lait. — Le mécanisme des actions réciproques du lait et du ferment lactique nous paraît maintenant facile à saisir. Tant qu'il y a de la caséine en solution, le ferment se développe et acidifie le liquide, mais la caséine prend peu à peu l'état insoluble, et comme le ferment ne sécrète pas de diastase capable de la dissoudre, comme d'ailleurs le coagulum qui se forme l'englobe dans ses mailles, l'action acidifiante ne s'accomplit plus qu'avec une telle lenteur qu'on peut admettre qu'elle cesse.

Quelques faits observés par M. Richet sont en parfait accord avec cette manière de voir.

Le degré d'acidité qu'atteint naturellement le lait est moindre après ébullition. C'est que l'ébullition diminue comme nous le savons, la proportion de caséum dissous au profit du caséum en suspension, surtout dans le lait de Paris, qui est toujours un peu acide. Le degré d'acidité auquel le lait arrive augmente quand on l'additionne de sûc pancréatique ou de suc gastrique. Le premier agit en rendant la caséine incoagulable par la caséase qu'il contient. Le second n'agit sans doute que par les matériaux albuminoïdes à moitié digérés, par les peptones qui l'accompagnent. On arriverait au même résultat en ajoutant un peu de bouillon, ou d'un autre liquide organique.

Quoi qu'il en soit, les quantités d'acide lactique nécessaires pour coaguler le lait varient avec la température. D'après M. Segelcke, un lait qui renferme 2 grammes par litre de cet acide ne supporte pas l'ébullition, et il se coagule à la température ordinaire quand il en contient 5 à 6 grammes par litre. Remarquons en passant que ces doses d'acide ne correspondent pas à la précipitation complète de la caséine, elles ne correspondent qu'à la formation d'un coagulum empâtant la masse, mais laissant en dissolution dans le sérum un peu de caséine qu'une dose d'acide plus grande peut précipiter.

Ces doses d'acide sont en moyenne plus faibles que celles que nous avons indiquées, p. 178, comme se rapportant à la coagulation par l'acide acétique. Elles sont du reste toujours un peu variables, car elles dépendent certainement de la proportion de phosphate de chaux que contient le lait. Le phosphate de chaux est dissous par les premières portions d'acide lactique formé, et soit que l'acide lactique soit en partie saturé par cette dissolution, soit qu'il mette en liberté de l'acide phosphorique, les conditions de la coagulation ont changé. Les sels présents dans ce liquide jouent aussi un rôle, comme il est facile de le comprendre en se rapportant aux résultats consignés p. 174. De sorte qu'il est impossible de donner, à propos de ce phénomène, des chiffres tout à fait précis.

Comme on pouvait s'y attendre, la composition du coagulum obtenu par les acides est différente de celle que fournit l'action de la présure. Voici, d'après Hammarsten, les quantités de chaux et d'acide phosphorique contenues dans les cendres du coagulum, privé de matières grasses, de divers laits, dont les quatre premiers ont été coagulés par la présure, tandis que le dernier a été additionné d'un peu de petit lait aigri. La dernière colonne donne le rapport entre la chaux et l'acide phosphorique.

	Chaux.	Acide phosphorique.	Rapport.
	—	—	—
1.	4,35	3,55	100 : 81,61
2.	4,40	3,60	100 : 81,82
3.	4,52	3,51	100 : 77,65
4.	4,74	4,0	100 : 84,39
5.	1,50	2,30	100 : 153,33

Le rapport de la chaux à l'acide phosphorique, dans le phosphate de chaux normal est de 100 : 84,62. On voit, qu'il n'est jamais atteint, et que la chaux est toujours en excès. Comme il n'est pas douteux, d'après ce que nous avons vu tout à l'heure, qu'il n'y ait du phosphate de chaux réellement formé et présent, il faut bien admettre qu'il y a dans le lait normal de la chaux en dissolution, sous forme de sel, précipitable avec la caséine. Ce que nous avons vu p. 174 et p. 176 nous autorise à croire que dans ces conditions, rien ne doit être plus variable que le moment de la coagulation.

Avec le dernier lait, la quantité de chaux entraînée a beaucoup baissé. Il est clair qu'elle est entrée, comme nous l'avions supposé, dans une combinaison nouvelle.

Moyens d'éviter la coagulation. — Au point de vue pratique, on voit que la coagulation obtenue par les acides sera différente de celle qu'on produira par la présure, et qu'il faudra s'y opposer par des moyens différents. Ceux qu'on peut employer ici se ramènent à deux chefs divers, supprimer la cause de production des acides, ou supprimer l'action des acides eux-mêmes.

C'est le second procédé qui est le plus souvent employé. La pratique a appris aux producteurs et aux laitiers à ajouter à leur produit du carbonate ou mieux du bicarbonate de soude ou de potasse, et cela même préventivement, afin de paralyser l'acide qui pourrait se produire. L'aspect blafard, à demi transparent, des laits qu'on consomme à Paris n'est pas dû à une autre cause. La caséine en effet subit peu à peu par ce contact, une transformation qui en fait de la caséine soluble, et fait perdre au lait cette opacité qui est un de ses principaux caractères. La saveur est aussi changée. Avec seulement 2 grammes de bicarbonate de soude par litre, le lait prend un goût de cuit caractéristique. A l'ébullition, il brunit sensiblement, par suite de l'action de l'alcali sur le sucre de lait. Cette addition de sels alcalins n'est en outre qu'un palliatif insuffisant, elle n'arrête pas la fermentation lactique, elle permet seulement au lait d'arriver sans se cailler chez le consommateur. Il est vrai que c'est tout ce que demandent les marchands. La modification qu'ils ont communiquée à leur produit ne les inquiète guère.

Une courte ébullition conduirait mieux au résultat voulu. Le lait apporte surtout ses germes de ferments lactiques du pis de la vache, ou les rencontre dans les vases où on le conserve; s'il y était introduit bouillant, sa conservation pour quelques jours serait assurée. On sait que Gay-Lussac, déjà en 1820, réussissait à conserver du lait de vache pendant deux mois en le faisant bouillir tous les jours d'abord, tous les deux jours ensuite.

Malheureusement, le public n'aime pas en général le goût de lait bouilli, tandis qu'il s'est plié à celui du lait additionné de carbonate de soude ou des autres ingrédients dont nous allons parler. D'ailleurs l'ébullition ne devrait jamais porter que sur du lait doux ou à peine acide, sous peine d'aboutir à une coagulation, en vertu des lois que nous avons énoncées plus haut.

Une pratique nouvelle commence à se répandre, qui vise à supprimer les causes de la production de l'acide lactique. C'est l'emploi des agents antiseptiques. L'acide salicylique semble un des plus actifs. Dans une expérience de Kolbe, du lait additionné de 0gr,4 par litre de cet acide ne s'est coagulé, à 18°, que trente-six heures après le lait normal, et ne présentait aucune saveur salicylique. Il faut se méfier des affirmations des inventeurs. Du lait que j'avais additionné de cette même quantité d'acide en présentait nettement le goût. Il faut d'ailleurs faire ses réserves à propos de l'introduction d'un antiseptique dans un aliment dont chacun consomme de grandes quantités. Il ne revient pas du tout au même de mettre de l'acide salicylique ou du borax dans le vin, la bière et le lait, ou dans le beurre et le fromage. Avec l'acide salicylique, il y a d'ailleurs un danger de plus, c'est qu'il se dissout très difficilement à l'état pulvérulent, et qu'il est très difficile à répartir dans la masse du lait. De là à être tenté de le remplacer par ses dissolutions aqueuses, il n'y a qu'un pas, et il faut éviter les tentations de cette nature.

L'acide borique, proposé en 1858 par Jacques, et étudié depuis par MM. Béchamp, Dumas, C. Pavesi, Gahn, Polli, Musso et Manetti, semble un peu moins actif que l'acide salicylique pour la conservation du lait. 1 gramme par litre suffit pourtant à retarder beaucoup la coagulation du lait; mais elle finit par se produire. Le borate de soude qui peut saturer l'acide formé, et laisser de l'acide borique dans la masse, s'oppose d'une manière plus efficace à la coagulation; 1gr,5 par litre de borax, à 12°, suffit pour conserver le lait pendant une semaine. Il en faudrait un peu plus à une température plus élevée. On trouve dans le commerce un mélange d'acide borique et de borax qui s'emploie dans ces proportions.

Il est certain que le borate de soude ne donne ni le goût de cuit, ni la saveur un peu savonneuse que communique le bicarbonate de soude, mais 1 ou 2 grammes par litre de ce produit correspondent à l'introduction journalière, dans l'alimentation, de doses assez considérables de sel, et soulèvent de graves questions d'hygiène. Nous avons vu, p. 179, que les antiseptiques paralysent aussi l'action des diastases, et il est sûr que la digestion des laits salicylés ou autres se fait autrement que celle des laits normaux; se fait-elle plus difficilement, cela est probable. En tout cas, il y a là une question à étudier, que nous devons nous borner pour le moment à placer sur son terrain scientifique.

BIBLIOGRAPHIE

SCHEELE. — *Sammtliche werke*, t. II, p. 249, 1793.

BERZÉLIUS. — *Ann. der Chem. und Pharm.*, t. I, p. 1, 1807.

BRACONNOT. — *Annales de chimie*, t. LXXXVI, p. 84.

BOUTRON et FRÉMY. — Recherches sur la fermentation lactique. *Ann. de chim. et de phys.*, 3e série, t. II.

REMAK. — *Canstadt's Jahresbericht*, t. I, p. 7, 1841.

PELOUZE et GELIS. — Fermentation lactique. *Ann. de chim. et de phys.*, 3e série, t. X, 1844.

LUBOLT. — *Journal f. prakt. Chemie*, t. LXXVII, p. 282.

BERTHELOT. — *Ann. de chim. et de phys.*, 3e série, t. L, p. 322.

PASTEUR. — Mémoire sur la fermentation appelée lactique. *Ann. de chim. et de phys.*, 3e série, t. LII, p. 404.

KOHL. — *Arch. f. Pharmacie*, 2e série, t. LXV, p. 17.

CH. RICHET. — De la fermentation lactique du sucre de lait. *Comptes rendus*, t. LXXXVI, p. 55[illegible] 1878.

— De quelques conditions de la fermentation lactique. *Comptes rendus*, t. LXXXVIII, p. 7[illegible] 1879.

SEGELCKE. — *Milchzeitung*, 1874, n° 89, p. 997.

DUCLAUX. — Mémoire sur le lait. *Ann. de l'Institut agronomique*, 1882.

CHAPITRE XLV

FERMENTATION DU LACTATE DE CHAUX

Le lactate de chaux, dont nous venons d'étudier les conditions de production aux dépens du sucre, contient à peu près autant d'*énergie* que le sucre lui-même, dans le sens que nous avons donné à cette expression, et peut, comme le sucre, subir un assez grand nombre de fermentations différentes. La mieux connue est celle qui le transforme en butyrate de chaux et qui est opérée sous l'action du ferment butyrique de M. Pasteur. C'est par elle que nous commencerons. Nous placerons à la suite d'autres modes de destruction encore mal étudiés.

Ferment butyrique du lactate de chaux. — Nous avons déjà pris ce ferment pour type des êtres anaérobies. Le moment est venu de bien mettre en relief ce caractère, en faisant son histoire physiologique.

Prenons pour cela un ballon à deux cols, tel que celui de la fig. 82, et introduisons-y un liquide formé de 8 à 10 litres d'eau pure, tenant en solution le mélange suivant :

Lactate de chaux pur.	225gr
Phosphate d'ammoniaque.	0 ,75
— de potasse.	0 ,4
Sulfate de magnésie.	0 ,4
— d'ammoniaque.	0 ,2

Le ballon plein, introduisons-en le col dans une capsule de porcelaine remplie du même liquide et faisons bouillir simultanément le liquide du ballon et celui de la capsule. Au bout d'une demi-heure d'ébullition, quand l'air du ballon est sûrement chassé, laissons refroidir celui-ci, et maintenons le bec de gaz sous la capsule, de façon que le ballon ne se remplisse, par refroidissement, que de liquide privé d'air. Puis, quand le ballon est plein, transportons-le dans une étuve chauffée de 25 à 30°, en plongeant dans un vase rempli de mercure l'extrémité de son tube abducteur.

Remplissons alors d'acide carbonique le petit entonnoir du verre qui surmonte le robinet de la tubulure droite, et faisons-y aussitôt passer, avec les précautions requises pour éviter l'accès de l'air, quelques centimètres cubes d'un

liquide identique au précédent, mais en fermentation butyrique active. Alors, en ouvrant un peu la clef du robinet, nous donnerons accès à l'intérieur du ballon à une petite portion du liquide fermentant qui n'y apporte pas d'oxygène dissous, puisqu'il n'en renferme pas lui-même.

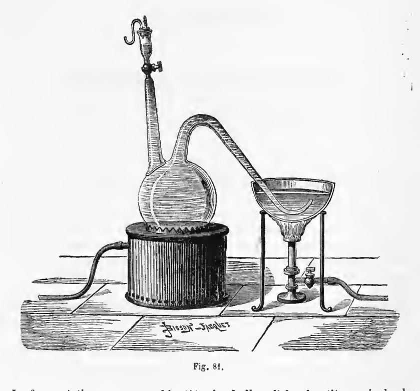


Fig. 81.

La fermentation commence bientôt : des bulles, d'abord petites, puis de plus en plus grosses et nombreuses, se dégagent et se montrent formées d'un mélange en proportions variables d'hydrogène et d'acide carbonique ; le liquide se trouble, le lactate de chaux y disparaît peu à peu, remplacé par du butyrate de chaux.

Si à un moment quelconque, lorsque la fermentation est en pleine activité, on y puise une goutte de liquide qu'on examine immédiatement au microscope, on la trouve remplie d'une foule de vibrions très agiles, assez même pour qu'on ait peine à suivre de l'œil tous leurs mouvements. Ils se reproduisent par scissiparité, par cloisonnement et segmentation transversale. « J'en vois deux, dit une note expressive du cahier d'observations de M. Pasteur, qui forment chaîne et paraissent faire effort pour se détacher. Évidemment un fil muqueux, gélatiniforme, invisible, les réunit, car voilà qu'à la suite de leurs efforts ils ne se touchent plus. Cependant ils ne sont pas disjoints, l'un est entraîné dans tous les mouvements de l'autre. Les voilà séparés, et ils s'éloignent, chacun de son côté, bien plus agiles et rapides qu'auparavant. »

Les chaînes qu'ils forment sont quelquefois très longues, et formées d'une

série d'articles flexueux et mobiles sur leurs articulations. Leurs mouvements alors sont balancés, lents et doux. Quelquefois les chaînes sont homogènes et ont l'aspect d'un très long filament.

Mais le plus souvent, on a sous les yeux les formes disjointes et même plus ou moins irrégulières de la fig. 82, qui serait tout à fait exacte si l'on avait pu y rendre l'aspect dodu, plein, des articles cylindriques, leur caractère à la fois flexueux et rigide, comme le serait celui de petits boudins trop remplis qu'on essaierait de recourber.

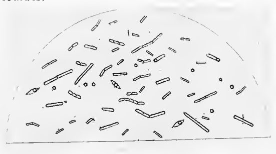


Fig. 82. — *Vibrion butyrique.*

Nous savons déjà que les mouvements agiles de ces vibrions disparaissent bientôt aux bords de la lamelle, dans l'observation microscopique, et qu'ils ne persistent un peu plus longtemps au centre que par suite de l'absence de l'air. Il faut, pour les voir dans toute leur vivacité, les examiner avec un dispositif tel qu'en aucun moment de la manipulation, les vibrions n'aient le contact de l'oxygène. On y arrive facilement par le procédé suivant.

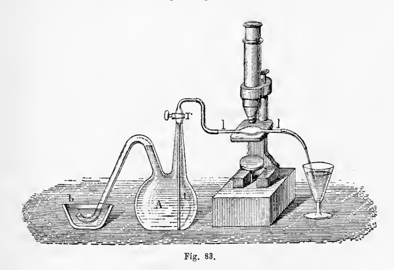


Fig. 83.

Le ballon A, fig. 83, ne diffère de celui dont nous nous sommes servis tout à l'heure, que par un tube plongeur *t* qui met la voie du robinet et l'extrémité de la tubulure droite en communication avec les couches placées au fond du vase.

Quand la fermentation butyrique y est en pleine activité, on relie l'extrémité de la tubulure, au moyen d'un tube de caoutchouc, avec la lentille creuse biconcave figurée en *ll*, placée sur le porte-objet d'un microscope. Cette lentille figurée plus en grand, en plan et en coupe, dans la fig. 84, est faite en verre soufflé très mince, et ses deux surfaces sont assez rapprochées dans leur partie centrale pour que le liquide y soit dans les conditions ordinaires de l'observation microscopique.

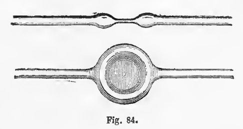


Fig. 84.

Pour la remplir, on ferme sous le mercure, en *b*, la tubulure de dégagement des gaz ; une pression s'exerce bientôt à l'intérieur du ballon, de telle sorte que lorsqu'on ouvre le robinet *r*, le liquide est chassé dans la lentille *ll* qui se remplit complètement, pendant que l'excédant se déverse dans le verre. On peut donc, par cet artifice, observer les vibrions sans qu'ils aient aucun contact avec l'air, et comme si l'objectif du microscope était plongé dans le liquide du ballon. C'est alors un spectacle des plus attachants que d'observer les mouvements et la multiplication par scissiparité des vibrions, qui sont là comme dans le liquide de fermentation lui-même, si l'on fait l'observation microscopique dans l'étuve où se trouve le ballon. Mais on peut aussi observer ailleurs. Un abaissement de température assez considérable, même de 15°, ne fait que ralentir les mouvements sans les supprimer.

En multipliant ces observations dans le courant d'une fermentation, on ne tarde pas à voir les mouvements devenir peu à peu moins vifs, et l'on peut assister au travail intérieur qui donne naissance à la formation de la spore. Fréquemment alors, l'article primitivement cylindrique s'effile aux deux extrémités et paraît se renfler au centre, comme si son protoplasma intérieur se concentrait en un point pendant que le reste de l'article se vide et se flétrit. La fig. 82 présente quelques articles pendant cette période. D'autrefois la spore apparaît à l'une des extrémités. Tout signe de fermentation disparaît alors. Enfin, la spore s'isole par résorption du tissu environnant, et tombe au fond du vase à l'état de précipité inerte.

Ce précipité de fond, formé le plus ordinairement d'un mélange de spores et d'articles sans mouvements, peut-il servir à ensemencer, sans nouveau passage au contact de l'air, une fermentation nouvelle ? L'emploi du ballon à tube plongeur, employé ci-dessus nous permet de nous en assurer d'une façon simple et sûre. Produisons-y une fermentation et attendons que le liquide se soit éclairci par le dépôt des filaments butyriques qu'il contenait. Préparons alors un deuxième ballon B, fig. 85, identique au premier, bouilli aussi de façon à en chasser tout l'air intérieur. Puis quand il est froid, réunissons-le par un

tube de caoutchouc *cc* au ballon A, après avoir rempli d'eau bouillie toute la partie des tubes comprise entre les deux robinets ; agitons alors le ballon A, de façon à remettre en suspension le dépôt de fond, et, à l'aide d'une pression

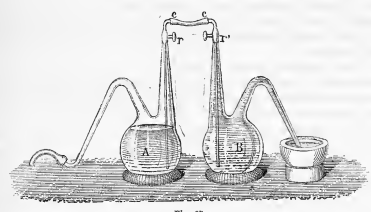


Fig. 85.

exercée en A au moyen d'acide carbonique, faisons passer en B une portion du liquide de A, qui y arrive sans avoir eu, d'une façon sensible, le contact de l'air. Nous verrons la fermentation commencer en B comme à l'ordinaire, sans ce retard que nous aurions observé, comme nous le savons, si nous avions voulu opérer de la même façon avec la levure de bière. Il paraît évident que le ferment butyrique a une vie anaérobie plus facile et s'accommode plus longtemps de la privation absolue d'oxygène qu'aucun des microbes que nous avons encore étudiés jusqu'ici.

Cette conclusion nous ramène à l'étude de l'action de l'air sur ces êtres. Nous savons déjà, par les renseignements que nous avons donnés sur leur observation microscopique, qu'à l'air, ils suspendent leurs mouvements et leur multiplication. On peut en conclure qu'en présence de l'air, la fermentation se ralentit. Le passage de quelques bulles d'air au milieu d'un liquide qui fermente, le simple contact de l'air à sa surface supérieure arrêtent ou retardent le dégagement gazeux, en proportion des facilités que l'oxygène a eues à pénétrer à l'intérieur de la masse.

Il est facile de s'assurer que cet oxygène est absorbé par les vibrions. On est donc obligé de conclure que le ferment butyrique est paralysé ou même tué par l'oxygène libre. Cette conclusion peut sembler en contradiction avec notre théorie générale de la fermentation, qui attribue le pouvoir ferment de certains êtres à la faculté qu'ils ont de respirer, ou au moins de vivre aux dépens de l'oxygène combiné. On peut, au premier abord, trouver quelque difficulté à comprendre que le ferment butyrique qui, d'après notre théorie, recherche l'oxygène parce qu'il est ferment, peut le redouter et en périr lorsqu'il le trouve à l'état libre. Il n'y a pourtant, quand on va au fond des choses, rien de contradictoire entre les deux énoncés, lorsqu'on prend l'oxygène pour ce qu'il est, pour une source de force. Il est bien plus puissant à l'état libre qu'à l'état combiné. Notre organisme se contente du degré de dilution où il le trouve dans

l'air, il ne saurait le supporter longtemps, s'il l'y trouvait à l'état pur. Nous savons, par les expériences de M. Bert, que l'oxygène, employé en excès, est mortel à tous les microbes, même à ceux dont la vie s'en accommode le mieux dans les conditions ordinaires. Pour le vibrion butyrique, être évidemment très anaérobie, l'*excès* commence avec l'oxygène tel qu'il est dans l'air, et l'action qui se produit alors, si étrange qu'elle nous paraisse, n'est qu'un cas particulier d'une loi générale.

Rien ne prouve d'ailleurs que le ferment butyrique, analogue en cela à la levure de bière, ne souhaite pas à un certain moment le contact d'une petite quantité d'air, et puisse se perpétuer en une longue série de générations sans subir, à un certain moment, l'influence revivifiante de l'oxygène. Nous savons déjà que ses spores supportent impunément le contact de ce gaz, et nous pouvons même deviner et dire de suite que c'est évidemment à l'aide de ces spores que peut se conserver l'espèce, chez ces êtres singuliers que l'air tue. Il se peut même que le passage de cette spore à l'air soit nécessaire dans la vie de ces vibrions. L'expérience que nous avons faite ci-dessus nous prouve bien que l'être peut s'en passer quelque temps, et qu'on peut ensemencer une seconde fermentation, sans transition, avec les germes d'une première, mais il n'a pas été fait une série suffisante de ces expériences pour nous permettre d'affirmer que cette faculté persiste d'une façon indéfinie. D'autre part, on remarque, dans l'étude de ces fermentations, entre les temps qu'elles mettent à s'accomplir dans deux liquides identiques, ensemencés l'un par l'autre, ou en même temps des différences quelquefois inexplicables, et qu'on ne saurait guère rapporter à autre chose qu'à des différences faibles d'aération entre les deux liquides ensemencés. Remarquons qu'à raison de la sensibilité de ces êtres vis-à-vis de l'oxygène, il faut très peu de ce gaz, ou en plus ou en moins, pour changer d'une façon sensible les conditions de la fermentation.

Les besoins physiologiques d'oxygène que nous venons d'étudier chez le vibrion butyrique sont évidemment les plus importants. Ils sont malheureusement aussi les seuls bien étudiés et bien connus. On ne sait guère sur l'alimentation minérale et azotée du ferment, autre chose que ce qui résulte de son facile développement dans le liquide purement minéral dont nous avons donné plus haut la composition. Comme le ferment lactique, le ferment butyrique préfère les milieux neutres, ou même un peu alcalins. Il paraît pouvoir faire fermenter d'autres substances hydrocarbonées que l'acide lactique, car bien que cette substance soit relativement rare dans la nature, les germes du ferment butyrique semblent présents partout. Il était fréquent autrefois, quand on mettait en train une fermentation lactique, qu'une partie du lactate de chaux produit subissait une fermentation butyrique, par l'intervention des vibrions dont la semence se trouvait soit dans les poussières des vases, soit dans les matières organiques employées. On croyait même alors que la formation d'un peu de butyrate de chaux était inévitable dans la fermentation lactique. Nous savons maintenant que lorsque le ferment est pur, il n'y a que du lactate de chaux produit. Mais nous allons voir que les incertitudes qui régnaient autrefois sur la nature et les proportions des produits de la fermentation lactique se retrouvent aujourd'hui dans la fermentation butyrique.

Produits de la fermentation butyrique. — Le produit principal de l'action du vibrion butyrique sur l'acide lactique est l'acide butyrique. La filiation résulte de l'équation suivante :

$$2C^6H^6O^6 = C^8H^8O^4 + 4CO^2 + 4H.$$

Il doit donc se dégager, et il se dégage en effet un mélange d'acide carbonique et d'hydrogène. Les proportions théoriques de ces gaz, quand on opère avec du lactate de chaux, ne sont pas celles de l'équation précédente, à cause de la présence de la chaux et de la substitution d'un seul équivalent d'acide butyrique à deux équivalents d'acide lactique. La formule chimique de la transformation est alors :

$$2(CaO,C^6H^5O^5) + HO = CaO,C^8H^7O^3 + CaO,CO^2 + 4H + 3CO^2.$$

Mais l'expérience n'est dans aucun cas d'accord soit avec cette formule, soit avec la précédente. Non seulement la proportion de l'acide carbonique et d'hydrogène n'est pas la proportion voulue, mais elle semble encore variable dans le courant de la fermentation. Quelquefois même, l'hydrogène manque totalement. Enfin on constate souvent la production de corps qui ne trouvent aucune place dans cette équation, par exemple celle de l'alcool butylique $C^8H^{10}O^2$. Mais d'autres fois cet alcool fait défaut. On pourrait penser, en songeant qu'il est plus hydrogéné que l'acide butyrique, qu'il se forme en plus grande quantité dans les fermentations où l'hydrogène est en plus faibles proportions. Il n'en est rien, et même, dans les rares fermentations rencontrées par M. Pasteur où l'hydrogène faisait défaut, il n'y avait pas eu formation d'alcool butylique. Ajoutons enfin que, dans une expérience, M. A. Fitz a observé la production d'un peu d'alcool ordinaire pendant une fermentation butyrique ordinaire.

Comment expliquer toutes ces irrégularités? On pourrait les considérer comme normales, et les attribuer à un changement régulier de propriétés du vibrion, suivant son âge plus ou moins avancé, et les conditions physiologiques et chimiques du milieu dans lequel il se développe. C'est l'explication admise par M. Pasteur, et nous allons l'appuyer bientôt de faits nouveaux et de considérations qui ne sont pas sans importance. Il importe pourtant de remarquer tout de suite qu'il y a une autre cause de variation, peut-être incapable de faire disparaître toutes les irrégularités observées, mais de nature certainement à en réduire l'importance et le nombre. C'est la différence dans la nature spécifique des êtres qu'on décore du nom de vibrion butyrique. Nous verrons bientôt qu'il y en a qu'on a appelés de ce nom et qui ne sont nullement le vibrion butyrique de M. Pasteur. M. Pasteur lui-même, à l'époque où il a fait ses études sur la fermentation butyrique, n'était pas encore en possession de ces procédés de culture qui en assurent d'une façon absolue la pureté, et bien qu'il se soit mis autant que possible en garde contre les causes d'erreur, il ne saurait affirmer qu'il a toujours eu sous les yeux le même être. D'un autre côté, le fait de produire de l'acide butyrique n'est pas caractéristique : nous allons le retrouver chez des êtres certainement très différents. La conclusion, c'est que, bien que nous connaissions d'une façon certaine des vibrions anaérobies transformant le lactate de chaux en butyrate de chaux, rien ne nous assure qu'il n'y ait pas dans

cette famille naturelle des variétés, diverses de formes, de grosseur et de besoins physiologiques, et pouvant par leur mélange produire quelques-unes des variations si curieuses observées dans les produits de la fermentation du lactate de chaux. Quant à ces variations d'un être à l'autre, elles sont sous l'empire d'une loi physiologique sur laquelle nous aurons bientôt à insister.

Autre ferment butyrique du lactate de chaux.— M. A. Fitz a décrit et figuré, comme autre ferment butyrique du lactate de chaux, de petites cellules rondes de $1^{\mu},6$ à $1^{\mu},7$ de diamètre, arrangées en chapelets, et se reproduisant comme à l'ordinaire, c'est-à-dire par allongement terminal, étranglement médian et segmentation transversale de l'article. La figure 86 qui donne

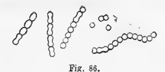


Fig. 86.

l'aspect des globules, en représente quelques-uns en voie de prolifération. La première semence a été rencontrée dans de la bouse de vache. Ces cellules font fermenter rapidement le lactate de chaux et le transforment en butyrate de chaux, mélangé d'une petite quantité d'acétate et de caproate de la même base. M. A. Fitz a aussi observé la production d'un peu d'acide succinique.

Fermentation propionique du lactate de chaux.—M. A. Fitz a en outre étudié d'autres modes de fermentation du lactate de chaux. L'un s'accomplit sous l'influence d'un bacillus grêle et allongé, qu'on rencontre quelquefois en chaînes de nombreux articles. Il aboutit à la formation, aux dépens de l'acide lactique, d'une trace d'alcool ordinaire, d'un peu d'acide succinique, et d'un produit principal formé d'un mélange d'acide acétique et d'acide propionique. La formule la plus vraisemblable de la réaction qui donne ce produit principal est :

$$3C^6H^6O^6 = 2C^6H^6O^4 + C^4H^4O^4 + 2HO + 2CO^2.$$

L'expérience est à peu près d'accord avec ces données théoriques. Il n'y a pas ici de dégagement d'hydrogène, et il ne se forme pas d'acide butyrique, de même qu'il ne se forme pas d'acide propionique par l'action du ferment butyrique. Cette fermentation propionique du lactate de chaux paraît avoir été observée pour la première fois par Strecker, mais son observation avait été méconnue et oubliée.

Fermentation valérianique du lactate de chaux. — Enfin, dans une autre fermentation, M. A. Fitz a observé la formation, en même temps que celle de l'acide propionique, d'une quantité à peu près équivalente d'acide valérianique, qui s'est montré à l'expérience être l'acide valérianique normal de Lieben et Rossi. Il y avait en outre un peu d'alcool, environ un millième du poids du lactate, des traces d'alcools supérieurs, et d'autres acides volatils qui n'ont pas été étudiés.

Synthèse de tous ces phénomènes. — Tous ces faits, encore incomplets, n'en ont pas moins leur importance. Ils prouvent que le lactate de chaux peut subir un grand nombre de modes de destruction divers, se ressemblant en ceci, qu'ils aboutissent tous en général à un ou plusieurs acides de la série grasse. Il y a évidemment dans cela autre chose que du hasard. Il est facile en effet de montrer qu'il y a dans l'acide lactique, de même que dans le sucre, les éléments d'un acide gras quelconque, plus ceux d'un mélange à équivalents égaux d'acide carbonique et d'hydrogène. C'est ce que montre la formule générale suivante,

$$(n-1)C^{12}H^{12}O^{12} = 2(n-1)C^6H^6O^6 = 3C^{2n}H^{2n}O^4 + 6(n-2)H + 6(n-2)CO^2$$

qui, pour $n=2$, donne de l'acide acétique, pour $n=3$, de l'acide propionique, pour $n=4$, de l'acide butyrique, et ainsi de suite. On voit qu'à mesure que n augmente, la proportion de carbone qu'on trouve à l'état brûlé dans l'acide carbonique, proportion qui est :

$$\frac{6(n-2)}{12(n-1)} = \frac{6(n-1)-6}{12(n-1)} = \frac{1-\frac{1}{n-1}}{2}$$

est une fraction de plus en plus grande du carbone de l'acide lactique ou du sucre entrant dans la réaction. Il en est de même pour l'hydrogène. La perte d'énergie est donc aussi variable d'une transformation à l'autre, et va en augmentant de plus en plus. On comprend donc qu'elle puisse correspondre à la vie de ferments très divers, qui pousseront la destruction plus ou moins loin, suivant leurs aptitudes physiologiques.

La formule qui précède peut évidemment rendre aussi compte de la formation des mélanges d'acides volatils, s'accomplissant avec dégagement d'hydrogène et d'acide carbonique à équivalents égaux. On pourrait de même en trouver une donnant la loi générale des fermentations sans dégagement gazeux d'hydrogène. Ce serait :

$$(3n-2)C^{12}H^{12}O^{12} = 2(3n-2)C^6H^6O^6 = 12C^{2n}H^{2n}O^4 + 12(n-2)HO + 12(n-2)CO^2.$$

Enfin, la formule générale suivante représente les fermentations avec mélange de deux acides volatils, dont nous avons vu plus haut un exemple dans la fermentation propionique du lactate de chaux.

$$(3n-3)C^{12}H^{12}O^{12} = 2(3n-3)C^6H^6O^6 = 8C^{2n}H^{2n}O^4 + 4C^{2n-2}H^{2n-2}O^4 + 4(3n-7)HO + 4(3n-7)CO^2.$$

On pourrait de même écrire le mode théorique de production des divers alcools aux dépens du sucre ou de l'acide lactique. La facilité avec laquelle on établit toutes ces formules empêche de leur attribuer une valeur quelconque au point de vue de la prévision des phénomènes. D'une manière générale, toutes les combinaisons sont possibles, mais ce que les formules montrent, c'est comment varie la perte d'énergie avec la nature et le degré de complication des produits. On comprend ainsi qu'il puisse y avoir divers modes de fermentation correspondant à des microbes différents. On comprend aussi, et tout aussi

aisément, que si le même microbe a, à diverses périodes de son existence, des besoins physiologiques divers, il puisse détruire de diverses façons la même molécule originelle. On ne saurait donc trouver dans l'étude de ces formules un moyen de résoudre le problème que nous nous sommes posé plus haut au sujet de la variabilité apparente des produits de la fermentation butyrique mais quand ce problème sera résolu expérimentalement, il faudra recourir à ces formules pour avoir une interprétation théorique nette des résultats obtenus.

BIBLIOGRAPHIE

Pelouze et Gelis. — *Ann. de Ch. et de Ph.*, 3e s., t. X, p. 434.

Pasteur. — Animalcules infusoires vivant sans gaz oxygène libre et déterminant des fermentations. *Comptes rendus*, t. LII, p. 861.

— *Études sur la bière*. Paris, Gauthier-Villars, p. 282, 1876.

A. Fitz. — Ueber Spaltpilzgahrungen. *Berichte der deutschen chem. Gesellchaft*, 1878, p. 42 et 1891; 1879, p. 479; 1880, p 1309.

Strecker. — *Ann. der Chemie*, 1854, t. 92, p. 80.

CHAPITRE XLVII

FERMENTATION BUTYRIQUE DU SUCRE. — FERMENT BUTYLIQUE

Le sucre n'a pas besoin de passer par l'état d'acide lactique pour devenir de l'acide butyrique. Il peut subir en une seule fois cette transformation, sous l'influence d'un ferment découvert et étudié par M. A. Fitz, et qui préside en outre à d'autres fermentations intéressantes que nous mettrons à la suite de celle du sucre.

Ferment butylique. — Ce ferment, fig. 87, est un bacillus assez large et assez trapu, ayant en moyenne 2^{μ} de large et 5 à 6^{μ} de longueur. Mais ces dimensions sont variables avec l'âge du microbe et la composition du liquide.

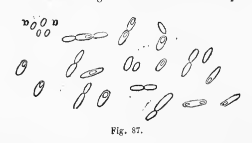


Fig. 87.

Le bâtonnet jeune est un peu plus mince que lorsqu'il est vieux. Il est aussi plus effilé et plus long dans les liquides albumineux. Il devient plus large dans les liqueurs riches en glycérine. Il arrive du reste souvent, lorsque la fermentation est bien en train, que les articles se renflent, rappelant ainsi les cellules mycéliennes du *mucor racemosus* qui se bombent en forme de tonneau, lorsqu'elles ont épuisé tout l'oxygène du liquide où elles vivent, et qu'elles y produisent un commencement de fermentation.

Dans des cas très rares, et de préférence lorsqu'on n'a pas entouré le microbe de ses conditions favorables de développement, on trouve des cellules en forme de boudin, ou même recourbées en forme de houe.

Ce bâtonnet est immobile lorsqu'il est jeune et qu'il se développe dans un liquide fortement aéré. Il ne donne pourtant jamais de pellicule à la surface. A l'intérieur du liquide privé d'oxygène et en fermentation, ses mouvements

sont vifs et paraissent s'accompagner d'une rotation autour de l'axe. On ne le trouve jamais en masses zoogloeiques.

Le contenu de la cellule est d'abord homogène et invisible, et reste longtemps tel dans les liquides albumineux, ou dans ceux qui renferment de fortes proportions de glycérine, d'alcool éthylique ou d'alcool butylique; mais d'ordinaire, les spores apparaissent au bout d'un temps très court, quelquefois après deux ou trois jours de végétation seulement. Cette apparition est précédée d'un phénomène que nous étudierons de plus près dans le *bacillus amylobacter*, mais qu'il est utile de signaler de suite. Le contenu de la cellule qui, dans l'état de jeunesse, se colore en jaune par l'iode, se colore en bleu ou même en noir quand la spore va se former. Quelquefois la coloration a lieu dans toute la masse, quelquefois par bandes réparties au nombre de deux à six sur la longueur de l'article, quelquefois sur un point seulement.

Les spores *a* sont ovales, comme le représente la figure, et ont la largeur du bâtonnet lui-même. On leur trouve pourtant quelquefois des formes irrégulières, allongées ou recourbées. Quand on les ensemence dans du liquide neuf et qu'elles se développent, elles perdent leurs contours accusés, leur éclat, et deviennent triangulaires. Le mode d'apparition de l'être nouveau n'a pas été examiné de plus près.

Aliments hydrocarbonés. — Ce ferment que M. Fitz a nommé, nous allons voir bientôt pourquoi, *bacillus butylicus*, peut vivre et se développer dans des solutions de lactate de chaux, de lactate d'ammoniaque, de glycérate de chaux, d'érythrite, de malate de chaux, de tartrate de chaux, de tartrate d'ammoniaque, de citrate de chaux, de sucre de lait, de quercite, de quinate de chaux. Mais il n'y détermine aucune fermentation. Il est là comme la levure de bière en présence du sucre de lait. Il fait au contraire fermenter très activement le sucre, la glycérine et la mannite.

Ceci est intéressant et mérite de nous arrêter un moment. Nous avons eu le droit d'expliquer l'inertie de la levure en présence du sucre de lait en disant qu'elle ne sécrétait pas de diastase pouvant rendre ce sucre assimilable. L'histoire des autres sucres, par exemple celle des rapports du sucre de canne avec le *mucor circinelloides* nous donnait ce droit. Mais ici nous n'avons rien de pareil à invoquer pour nous expliquer comment ce vibrion butylique ne fait pas fermenter par exemple le malate et le tartrate de chaux, ou encore le lactate de chaux, qui n'ont besoin d'aucune transformation diastasique pour devenir assimilables, et peuvent, en effet, subir des fermentations très diverses. Il nous faut, pour répondre à cette question, nous adresser à la théorie générale de la fermentation que nous avons esquissée au chapitre XXXVII, et dire que le ferment butylique, anaérobie, comme nous allons le voir, ne peut faire fermenter que les substances qui renferment assez d'énergie pour suffire à ses besoins vitaux particuliers, et laisse les autres, tout en pouvant vivre à leur contact, en utiliser même les matériaux, mais à la condition d'avoir toujours de l'oxygène à sa disposition, et d'y trouver l'excédant d'énergie que ne peut lui fournir la destruction à l'abri de l'air de ces matériaux, non fermentescibles pour lui. Nous sommes donc conduits à séparer, pour le ferment butylique, comme pour tous les

autres microbes, la notion de la substance alimentaire de celle de la substance fermentescible, celle du composé dont ils peuvent utiliser les matériaux au contact de l'air, de celle du corps qu'ils peuvent détruire à l'abri de l'air. Toutes choses égales d'ailleurs, il est clair qu'il faut dans le second de l'énergie de plus que dans le premier.

A vrai dire, cette notion n'est pas nouvelle. Elle date du jour où M. Pasteur a réussi à faire vivre la levure dans un liquide où elle ne produisait pas de fermentation. Mais là la notion est un peu moins claire. Dans sa première expérience faite sur le sucre de lait, M. Pasteur ne s'est pas assuré que ce corps avait été mis en œuvre par la levure. Il se peut que celle-ci se soit uniquement formée aux dépens des matériaux albuminoïdes de la liqueur, car nous savons, aussi par M. Pasteur, quelle peut vivre dans de l'eau de levure pure, sans aliment hydrocarboné. Dans cette eau de levure, d'un autre côté, il n'y a pas à s'étonner de ne voir apparaître aucune fermentation, puisqu'on n'y connaît guère aucune substance fermentescible, et que celle qui pourrait s'y trouver, la dextrane de Nægeli, y est dans un grand état de dilution. Voilà pourquoi il est intéressant de trouver un microbe faisant fermenter activement une dissolution de sucre et respectant une solution de lactate de chaux. S'il n'y a pas eu d'erreur dans l'observation de M. Fitz, elle donne l'exemple le plus clair de la différence qu'il peut y avoir, pour de certains microbes, entre consommer une substance au contact de l'air ou la faire fermenter à l'abri de l'air.

Perte du pouvoir ferment. — A la notion que nous venons de développer se relient d'autres faits curieux. Le *bacillus butylicus* peut perdre sous diverses influences son pouvoir ferment, et se comporter vis-à-vis des substances dont il provoque si facilement à l'état ordinaire la fermentation, la transformation à l'abri de l'air, comme vis-à-vis de celles qu'il ne peut consommer qu'au contact de ce gaz.

La chaleur est une de ces influences. Des spores de *bacillus butylicus* ensemencées dans une solution de glycérine et d'extrait de viande, ont été chauffées à l'ébullition pendant 1, 3, 6, 10, 15 et 20 minutes. Les deux premiers flacons ont seuls donné un développement, et il n'y a eu fermentation que dans celui qui a été bouilli une minute.

Dans une autre série d'expériences identiques, faites avec du sucre de raisin et de l'extrait de viande, il y a eu développement dans les quatre premiers flacons. Il n'y a eu fermentation que dans ceux qui avaient été chauffés une et trois minutes, il n'y a eu que développement du bacillus, sans fermentation, dans ceux qui avaient été bouillis six et dix minutes.

Il n'est même pas nécessaire, comme nous allons le voir, de chauffer à l'ébullition pour détruire le caractère ferment. Deux flacons, ensemencés de spores, et contenant une solution de glycérine avec de l'extrait de viande, ont été laissés deux et six heures dans une étuve à 95°. Dans le premier, il y a eu développement du microbe, mais pas de fermentation. Dans le second, les spores étaient mortes.

D'autres flacons identiques aux précédents ont été laissés dans une étuve à 90° pendant les nombres d'heures que voici : 2, 2 1/2, 3, 3 1/2, 4, 4 1/2, 5, 5 1/2, 6 et 11 heures. Le dernier seul n'a pas donné de développement. Dans les trois

premiers, il y a eu fermentation, avec une activité régulièrement décroissante. Dans les autres, il y a eu développement du bacillus sans fermentation.

A 80°, il y a encore développement des spores après sept heures de chauffe, mais pas de fermentation.

A 70°, le pouvoir ferment n'est pas supprimé après douze heures de chauffe.

Les détails dans lesquels nous venons d'entrer indiquent bien que la disparition de la propriété d'être ferment est un phénomène pathologique. Elle précède, comme on voit, de très peu la mort, qui est le dernier terme de la série de désordres produits par l'action de la chaleur. Voici une autre influence qui semble au premier abord différente.

Le pouvoir ferment peut aussi être aboli lorsque l'on fait vivre le bacillus en présence d'une quantité exagérée et suffisamment renouvelée d'oxygène. Sème-t-on par exemple, seulement quelques cellules dans une grande quantité de liquide nutritif, le pouvoir ferment est faible ou même disparaît totalement.

On arrive au même résultat en cultivant toute une série de générations du microbe au large contact de l'air, dans un liquide nutritif mais non fermentescible, par exemple dans une dissolution d'extrait de viande, étalée en couche mince au fond d'un matras à fond plat. En ensemençant le premier de ces matras, puis, quatre jours après, le second avec le premier, et ainsi de suite jusqu'au quatrième, rapportant ensuite de ce dernier la semence dans un liquide fermentescible, on a obtenu un développement, mais pas de fermentation. La même expérience a été faite avec du lactate de chaux et a conduit au même résultat.

Dans leur ensemble, ces résultats nous rappellent ceux que nous avons constatés p. 112 de cet ouvrage sur l'action de l'oxygène sur les microbes producteurs de maladies contagieuses, tels que la bactéridie charbonneuse. Ceux qui sont relatifs à l'action de la chaleur rappellent les travaux de M. Toussaint et de M. Chauveau, sur la diminution de virulence des virus charbonneux; mais ils ont l'avantage sensible de se rapporter à des expériences faites *in vitro*, et de ne pas mettre en jeu, dans leur interprétation, des notions aussi délicates que celle de la réaction de l'organisme contre les microbes qui tentent de s'y implanter. Ce n'est plus un être vivant qui cède ou ne cède pas à l'action d'un virus diversement atténué, c'est une même matière morte, la glycérine ou le sucre, qui fermente ou ne fermente pas sous l'action d'un microbe diversement soumis à l'action de la chaleur ou à celle de l'oxygène.

Comment interpréter ce fait, et d'abord comment comprendre que deux actions aussi différentes que celle de la chaleur et celle de l'oxygène conduisent au même résultat? Si dissemblables qu'elles soient, remarquons pourtant qu'elles ont des points communs, et que même on pourrait, par des hypothèses plausibles, les rattacher l'une à l'autre. On a le droit d'admettre que lorsqu'on soumet un lot de spores à l'action de la chaleur, elles ne sont pas toutes tuées au bout du même temps, et qu'un instant avant qu'elles ne soient toutes mortes, il en reste quelques-unes qui, ensemencées dans un liquide nutritif, se trouvent dans le même cas que lorsqu'à la suite de M. Fitz, on ensemence un petit nombre de spores non chauffées dans un volume exagéré de liquide. L'action de la chaleur reviendrait dans cette hypothèse à réduire la quantité de semence, et

à faire intervenir cette influence des doses, que M. Chauveau a rencontrée dans ses études sur les virus.

D'un autre côté, on pourrait soutenir aussi que chez un être aussi certainement anaérobie, l'action de l'oxygène doit produire à la longue une influence débilitante analogue à celle que produit certainement la chaleur. Dans la fermentation, en effet, il y a une répercussion d'actions: le microbe a besoin de la commencer, pour trouver dans la chaleur rendue disponible par la destruction de la proportion minime de matière embrassée dans sa première attaque, ce qu'il lui faut pour la continuer. Elle est, en quelque sorte, comme nous l'avons vu, assimilable à la destruction d'un corps explosif, qui a besoin d'être provoquée sur un point pour pouvoir continuer. On comprend facilement dès lors qu'il faut à l'être vivant qui la provoque une certaine intensité de vie, que le contact de la chaleur ou le séjour prolongé à l'oxygène peuvent lui faire perdre.

En somme, nous revenons toujours, ici comme lorsqu'il s'est agi d'expliquer la diminution dans la virulence de la bactéridie, à des variations survenant dans les propriétés physiologiques de l'être vivant. Ces variations ne l'empêchent pas de vivre et de se développer au moyen de ses substances nutritives. Elles pourraient même passer inaperçues dans des conditions de vie facile, ou ne se traduire que par des différences dans la rapidité ou la puissance de reproduction, si ces êtres n'étaient pas capables, dans certaines circonstances, de mener une vie différente, plus pénible certainement que la première, accomplie avec effort, et exigeant la victoire sur certaines résistances, celle qu'oppose la destruction à l'abri de l'air de la molécule d'une substance fermentescible, ou celle qui résulte de la concurrence vitale des cellules d'un organisme vis-à-vis des ferments qui pourraient tenter de s'y implanter.

Conditions physiologiques de la fermentation. — Revenons maintenant à l'étude des conditions dans lesquelles s'accomplit une fermentation régulière. Nous connaissons déjà trois substances hydrocarbonées qui peuvent la subir: le sucre, la glycérine et la mannite. Les deux dernières n'ont besoin de l'action préparatoire d'aucune diastase. Il en est de même pour le sucre quand il est sous forme de glucose ou de sucre interverti. Le microbe s'en accommode encore quand on le lui présente à l'état de sucre candi, parce qu'il sécrète de la sucrase qui le transforme; comme il ne sécrète pas d'amylase, il ne peut transformer l'amidon. Comme aliment azoté, il peut se nourrir de diverses matières albuminoïdes. M. A. Fitz s'est en effet assuré qu'il sécrétait une ou plusieurs diastases capables de liquéfier la fibrine, la caséine, le gluten et l'albumine du sérum; mais son action sur ces substances s'accomplit sans dégagement de gaz et sans fermentation

Les meilleurs milieux sont des solutions à 3 p. 100 de sucre, de mannite ou de glycérine, additionnées de $\frac{1}{1000}$ d'extrait de viande, et d'une quantité suffisante de carbonate de chaux destiné à maintenir la neutralité de la liqueur. Il est bon de ne pas opérer sur des liqueurs plus concentrées. Non pas que le bacillus n'y puisse vivre, l'expérience a montré qu'il pouvait faire fermenter

des dissolutions à 20 p. 100 de glycérine, mais si la fermentation y commence, elle ne s'y termine pas, à cause de l'action nocive de ses produits sur l'être qui en est l'agent. Nous allons voir que ces produits sont de l'acide butyrique, de l'alcool butylique, et un peu d'alcool ordinaire. Or, l'expérience a montré que le *bacillus* ne se développait pas dans des liquides renfermant au-dessus de 0,05 ou 1 p. 100 d'acide butyrique, de 0,9 à 1,05 p. 100 d'alcool butylique, et de 2,7 à 3,3 p. 100 d'alcool. Ces limites ne sont pas absolues, et nous savons, par les détails donnés dans la première partie de cet ouvrage, que tout en représentant peut-être les conditions défavorables à la germination des spores, elles sont sans doute inférieures à celles de la reproduction des êtres adultes, mais elles sont évidemment très étroites, et c'est en partie pour supprimer l'influence nuisible de l'acide butyrique, qu'on ajoute du carbonate de chaux à la liqueur fermentescible.

Conditions de température. — La température la plus favorable est voisine de 40°. A 42°, la fermentation est encore rapide, mais son activité décroît à mesure que la température monte. Elle cesse de pouvoir se produire entre 45 et 45°,5. Cette limite est d'ailleurs peut-être variable avec la nature du milieu et l'état de la semence.

Le microbe adulte n'est pourtant pas tué à cette température. Après trois semaines d'inertie à la température de 46° : un flacon s'est mis à fermenter quand on l'a ramené à 37°. La mort n'a lieu que quelques degrés plus haut. Quand on opère sur des spores, les limites s'élèvent beaucoup, et, comme nous avions le droit de nous y attendre, M. Fitz les a trouvées variables avec l'âge et la qualité des spores, ainsi qu'avec la nature du milieu. Par exemple, avec des dissolutions de glycérine et d'extrait de viande, on a trouvé, pour les durées d'ébullition entraînant la mort des spores, les chiffres suivants dans trois séries d'expériences : pour la première : entre trois et cinq minutes ; pour la seconde : entre six et dix minutes ; pour la dernière : entre quinze et vingt minutes.

Avec la mannite, les durées d'ébullition nécessaires pour stériliser la liqueur ont varié entre six et dix minutes, avec le glucose entre trois et six minutes dans un cas, entre dix et quinze minutes dans un autre.

On n'a pas besoin de recourir à l'ébullition pour tuer les spores, une température inférieure suffit, à la condition qu'on lui laisse le temps d'agir. Ainsi il faut entre deux et six heures pour amener la mort à 95°, entre six et onze heures à 90°, entre sept et onze heures à 80° ; à 70°, douze heures ne suffisent pas à stériliser la liqueur.

Tous ces nombres se rapportent à des liquides renfermant de la glycérine et de l'extrait de viande. La résistance est un peu moindre dans des solutions de sucre de raisin. Il ne faut que deux heures à 95°, ou six heures à 90°, pour tuer les spores.

La résistance est aussi plus faible dans des dissolutions de glycérine additionnées de sel ammoniac comme aliment azoté, que dans celles où on a mis de l'extrait de viande. La mort survient, dans les premières liqueurs, entre deux heures et demie et trois heures à 90°, au lieu de six heures au minimum qu'exigent les autres.

Quand on a à stériliser les liquides d'ensemencement, le plus sûr est de les chauffer à 110°.

Analyse des produits. — Le liquide de fermentation contient d'ordinaire un mélange complexe de produits que M. Fitz a séparés par les procédés suivants :

On le soumet d'abord à la distillation. Comme il est à peu près neutre, on sépare ainsi les alcools, qu'on concentre par des distillations successives et au besoin par le carbonate de potasse. L'étude de leurs températures d'ébullition à la distillation fractionnée, et au besoin celle de leurs produits d'oxydation par le chromate de potasse et l'acide sulfurique, renseigne sur leur nature et sur leurs proportions approximatives.

Comme on a pesé le carbonate de chaux introduit à l'origine dans le vase en fermentation et ce qui en reste à la fin, on sait la quantité de chaux entrée en solution. On ajoute la quantité d'acide chlorhydrique strictement nécessaire pour la saturer, et on distille à nouveau. Les mêmes procédés que ceux dont on vient de se servir à propos des alcools, renseignent sur la nature et les proportions approximatives des acides volatils. Le procédé ne permet pas de séparer ceux qui sont en trop petite quantité, et on ne peut être mis sur la trace de leur présence qu'en étudiant les sels de chaux ou d'argent obtenus en saturant séparément les produits de la distillation fractionnée. Le résidu de chaux ou d'argent laissé par la calcination d'un certain poids de ces sels varie assez de l'un à l'autre pour qu'on puisse savoir à peu près si l'on a affaire à un sel pur ou à un mélange. Dans le premier cas, il n'y a guère d'incertitudes; dans le second, il est toujours délicat de savoir quels sont les sels mélangés. L'emploi des procédés que j'ai indiqués dans mon travail sur les vins, et que j'ai déjà visés dans le courant de ce livre, ferait disparaître toutes les hésitations, et conduirait à découvrir des traces d'acides volatils que le procédé de M. Fitz laisse noyés et inaperçus dans la masse.

Le résidu laissé par la distillation des acides volatils peut maintenant renfermer des acides fixes. Son traitement par l'éther serait long et ennuyeux. Il vaut mieux précipiter par de la soude toute la chaux, dont on connaît la quantité, concentrer le liquide filtré, l'évaporer à sec au bain-marie, et l'épuiser par l'alcool absolu, qui laisse le sel marin et dissout les acides fixes. On évapore le liquide alcoolique, on dissout le résidu dans l'eau, et on sépare par l'éther les acides solubles. Ces acides consistent surtout en acide lactique, qu'on caractérise par son sel de zinc.

Cela posé, nous pouvons entrer dans l'étude des produits que fournissent le sucre, la mannite et la glycérine.

Produits de la fermentation. — *Sucre.* — Le liquide de fermentation est un peu acide. Il contient un peu d'alcool butylique normal, de l'acide butyrique normal, mélangé d'une trace d'un acide gras supérieur, sans doute d'acide caproïque, et comme acide fixe, une petite quantité d'acide lactique.

Mannite. — Le liquide de fermentation est aussi un peu acide. On y trouve

de l'alcool butylique normal avec une trace d'alcool éthylique, et de l'acide butyrique pur, sans mélange d'autre acide. Dans le résidu, on trouve un peu d'acide lactique et d'acide succinique.

Glycérine. — Les produits de la première distillation sont de l'alcool butylique mélangé d'une quantité minime d'alcool ordinaire. Les acides volatils sont formés d'une petite quantité d'acides acétique et caproïque, avec un grand excès d'acide butyrique. Dans le résidu fixe, on trouve de l'acide lactique. Quand on l'en a séparé par l'action de l'éther, on sature de nouveau par la soude, on concentre, on dessèche au bain-marie, et on reprend par l'alcool absolu. Celui-ci sépare un liquide sirupeux, bouillant entre 213 et 217°, et sans doute identique au triméthylenalcool de Freund.

On voit que les produits de la fermentation sont complexes et variables d'une substance à l'autre. Quant à leurs proportions, elles sont variables aussi, comme le montre le tableau suivant qui donne les chiffres approximatifs rapportés à 100 grammes des corps fermentescibles :

On obtient avec	100gr sucre interverti.	100gr mannite.	100gr glycérine.
	—	—	—
Alcool butylique	0,5	10,2	8,1
Acide butyrique	42,5	35,4	17,4
Acide lactique	0,3	0,4	1,7
Acide succinique	traces	0,01	»
Triméthylenalcool	»	»	3,4
	43,3	46,0	30,6

On voit qu'avec le sucre, l'alcool manque presque totalement, qu'il forme à peu près le tiers du poids des acides volatils avec la mannite, et la moitié avec la glycérine. Si les produits de l'action d'un même microbe sur diverses substances conservent un air de famille, on voit au moins qu'ils sont en proportions très diverses.

Mais il ne faudrait pas croire qu'ils sont beaucoup plus constants quand on opère avec la même substance fermentescible. Leurs variations dans des conditions en apparence tout à fait identiques sont même telles qu'il faut renoncer à voir dans le phénomène qui s'accomplit une fermentation simple. Comme à propos des fermentations butyriques étudiées dans notre dernier chapitre, il faut y voir une série de modes de décomposition survenant dans une même substance, commandés par la même loi physiologique, mais aboutissant à des états d'équilibre très divers. Plusieurs de ces fermentations différentes se superposent dans un même flacon, suivant sans doute l'état de la semence, la plus ou moins grande aération du liquide, peut-être la température. Il y a là un problème intéressant à résoudre. Mais pour le moment nous n'avons qu'à montrer que tous les produits si divers dont nous venons de constater la formation résultent d'une combustion intérieure subie par la substance aux dépens de laquelle ils prennent naissance, et qu'ils s'accompagnent tous d'une perte d'énergie variable et de la formation d'acide carbonique et d'hydrogène. C'est ce que montrent les formules suivantes :

Sucre. — Production d'alcool butylique

$$C^{12}H^{12}O^{12} = C^8H^{10}O^2 + 2HO + 4CO^2.$$

Production d'acide butyrique

$$C^{12}H^{12}O^{12} = C^8H^8O^4 + 4H + 4CO^2.$$

La formation d'acide lactique se comprend d'elle-même.

Mannite. — Production d'alcool butylique

$$C^{12}H^{14}O^{12} = C^8H^{10}O^2 + 2HO + 2H + 4CO^2.$$

Production d'acide butyrique

$$C^{12}H^{14}O^{12} = C^8H^8O^4 + 6H + 4CO^2.$$

Glycérine. — Production d'alcool ordinaire

$$2C^6H^8O^6 = 2C^4H^6O^2 + 4H + 4CO^2.$$

Production d'alcool propylique

$$2C^6H^8O^6 = C^8H^{10}O^2 + 2HO + 4H + 4CO^2.$$

Production d'acide butyrique

$$2C^6H^8O^6 = C^8H^8O^4 + 8H + 4CO^2.$$

Il suffit du reste d'écrire les formules des trois corps fermentescibles sous la forme:

Sucre.	$C^{12}H^{12}O^{12}$
Mannite.	$C^{12}H^{14}O^{12}$
Glycérine.	$C^{12}H^{16}O^{12}$

pour voir les liens de parenté qui peuvent rapprocher leurs produits de fermentation, lorsque cette fermentation s'accomplit avec dégagement de quantités variables d'hydrogène, c'est-à-dire du seul élément qui soit variable de l'un de ces corps à l'autre.

Fermentation du butyrate de chaux. — Nous aurions maintenant, pour rester fidèles à notre plan de poursuivre la destruction d'une molécule initiale complexe jusqu'au moment où elle est arrivée à l'état d'eau et d'acide carbonique, à étudier comment fermentent ou sont brûlés à leur tour les produits dont nous venons d'examiner la filiation avec le sucre. C'est un sujet sur lequel on n'a que très peu de renseignements. Ces produits ne paraissent pas capables de fermenter à leur tour. Leur énergie intérieure n'est pas suffisante, et c'est peut-être pour cela, comme nous avons eu l'occasion de le dire, qu'ils sont des résidus d'une vie anaérobie. Peut-être serait-il pourtant encore possible de transformer le butyrate de chaux en acétate ou formiate de chaux par une oxydation incomplète. Mais on ne connaît un peu que l'action exercée par les mucédinées qui brûlent ce sel, en le faisant passer en partie à

l'état d'oxalate de chaux, qui bientôt disparaît à son tour. On voit que c'est toujours le même phénomène général ; si son mode varie, son essence reste la même, et forme le trait caractéristique des diverses transformations étudiées dans ce livre.

BIBLIOGRAPHIE

A. Fitz. — Uber Spaltpilzgahrungen. *Ber. der deutsch. chem. Gesell.* IX, p. 1348 ; X, p. 176 ; XI, p. 42 et 1890 ; XIII, p. 1309 ; XV, p. 867.

CHAPITRE XLVIII

FERMENTATION ALCOOLIQUE ET ACÉTIQUE DES SUCRES

Les êtres que nous avons étudiés dans les deux chapitres précédents présentent deux côtés curieux dans leur histoire. En premier lieu, ils peuvent vivre aux dépens de matériaux très divers, et les produits de fermentation auxquels ils aboutissent alors, au lieu d'avoir la variété à laquelle on aurait le droit de s'attendre, ont entre eux un air de famille, sont quelquefois identiques dans les divers cas, et sont au moins toujours plus voisins, au point de vue chimique, que les substances dont ils proviennent. En second lieu, lorsque ces êtres vivent aux dépens d'une même substance, et dans des conditions en apparence identiques, ils sont loin d'avoir la régularité d'allures à laquelle la levure de bière nous a habitués, et on voit apparaître, dans les proportions et quelquefois dans la nature des produits de fermentation, des irrégularités qui paraissent singulières, et dont nous avons pu pourtant ébaucher l'explication, en montrant qu'elles avaient entre elles une liaison physiologique.

Tous les êtres que nous connaissons jusqu'ici avec ces propriétés sont des anaérobies, et, par conséquent, des ferments, aboutissant à des combustions intérieures. Nous allons en trouver de tout pareils, à la fois aérobies ou anaérobies, ou même aérobies purs. Nous mettrons en premier lieu un être assez singulier, agent de fermentation ou de combustion, exerçant son action sur les matières les plus diverses, et donnant avec elles, lorsqu'il ne les brûle pas complètement, des produits identiques pour toutes et voisins l'un de l'autre, de l'alcool et de l'acide acétique.

Actinobacter polymorphus. — J'ai appelé de ce nom une petite bactérie, très répandue, pouvant vivre aux dépens de substances très diverses, et affecter, suivant les milieux où elle vit, une assez grande variété de formes tout en conservant une assez grande constance dans ses propriétés.

Elle se développe bien dans le lait, et c'est là qu'elle prend son aspect le plus curieux. On la trouve, quelques heures après l'ensemencement, sous la forme de petits articles, très ténus, immobiles, fig. 88 (A), ayant de 2 à 3 μ de longueur, tellement fins qu'on ne voit pas leurs contours et qu'ils apparaissent comme de petites lignes noires. Chacun de ces petits bâtonnets est comme enfermé au

centre d'une petite masse glaireuse, hyaline, ovale ou ronde, ayant 5 ou 6 µ de largeur, et formant corps avec le filament, car elle voyage avec lui dans le liquide. Ce sac est plus réfringent que le reste du liquide. Au microscope, lorsqu'il est bien au point, il apparaît en blanc sur un fond gris, et le bâtonnet qu'il enferme est tout noir par contraste. Lorsqu'on soulève un peu l'objectif, le sac apparaît, au contraire, en gris sur fond clair, et sa ligne centrale, formée par la bactérie, transparaît en blanc.

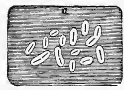




Fig. 88.

La multiplication se fait à l'intérieur de ce sac, qui s'allonge quand la bactérie s'allonge, et se segmente avec elle, de sorte que quand les deux êtres se séparent, chacun entraîne avec lui son enveloppe, au sein de laquelle il recommence son travail de reproduction. Celle-ci est tellement rapide que le liquide est rempli au bout de vingt-quatre heures de ces masses hyalines. On les voit au microscope, serrées les unes contre les autres, se déformant un peu par leur contact de façon à remplir tous les vides, et tapissant le champ d'un semis régulier de cellules d'aspect doux, dont chacune porte en son centre le bâtonnet qui lui a donné naissance. Cette enveloppe est, en effet, une sécrétion de l'infusoire, et non le résultat d'une condensation visqueuse du liquide autour de lui, car lorsque ce liquide est rempli de granulations flottantes, les sacs hyalins en sont tout à fait exempts.

Pendant les premières heures, le lait reste intact en apparence, conserve sa couleur normale. Il devient seulement de plus en plus gélatineux, et finit, lorsqu'il a été envahi dans son entier par la bactérie, comme nous le disions tout à l'heure, par devenir très visqueux. A ce moment, il a déjà perdu de son opacité, ainsi qu'on peut s'y attendre en songeant au caractère glaireux du sac bactérien. Sa transparence augmente ensuite de plus en plus, sa liquidité aussi. Le coagulum se réunit au fond et disparaît à son tour. Tout est alors devenu un liquide transparent, ayant une viscosité un peu supérieure à celle du lait ordinaire.

Si l'on suit au microscope la transformation qui s'opère, on voit d'abord l'auréole diminuer un peu, et en même temps le bâtonnet, qui n'était jusque-là qu'une simple ligne noire, devient moins opaque et *tourne* davantage sous l'œil, c'est-à-dire qu'on en voit mieux la forme cylindrique. Sa largeur augmente au fur et à mesure que l'enveloppe disparaît; lorsqu'il en est débarrassé, il a la forme d'un petit boudin très court B, fig. 88, dont tous les contours sont bien visibles, et qui, avec sa longueur restée invariable de 2 ou 3µ, peut atteindre 1µ de largeur. Ce petit boudin continue à se reproduire par segmentation transversale, et prend quelquefois la forme de deux grains accolés, plus ou moins étirés au voisinage de leur point de jonction. On croirait alors avoir sous les yeux un article de ferment lactique, ou plutôt un de ces chapelets de deux grains, plus

dodus, plus turgescents que le ferment lactique, qu'on rencontre souvent dans la bière qui commence à tourner. Bref, la forme est devenue tout autre que ce qu'elle était à l'origine.

Dans le bouillon Liebig, où cet être se développe aussi très facilement, on ne trouve à aucun moment trace de l'auréole rencontrée dans le lait, et la forme est tout de suite celle du petit boudin à bords visibles que nous venons de signaler. La longueur est seulement un peu plus grande que dans le lait, et peut atteindre 8 ou 10 μ ou même davantage. De plus, ces petits cylindres ne sont pas réguliers. Ils ont une surface un peu rugueuse, et leur intérieur, au lieu d'être doux à l'œil et homogène comme dans le lait, se montre tout granuleux. La segmentation se fait comme tout à l'heure, et les articles finissent par se souder en masses blanches flottantes, formées d'un semis très régulier de petites ponctuations indistinctes, dont la réfringence reste la même que chez l'être adulte.

Dans une solution de glycérine, accompagnée d'éléments nutritifs, l'auréole reparaît, mais moins large et moins réfringente que dans le lait. Le bâtonnet, à son tour, n'est plus une simple ligne fine, c'est un petit cylindre à contours assez nets, moins large pourtant que dans le bouillon Liebig, et qui semble grossir aussi aux dépens de son sac hyalin. Ce sac ne disparaît jamais complètement, comme dans le lait, sans doute parce que le liquide reste acide. C'est aussi sans doute à cette acidité qu'il faut attribuer une autre forme de développement que prend ici le microbe, celle d'une couche glaireuse, existant à la surface du liquide, et formée de fils très ténus, d'un tiers plus minces que les boudins courts de tout à l'heure, mais de beaucoup plus longs, car il en est qui traversent tout le champ du microscope. Ces fils sont assez raides, un peu contournés, et portent par places des ponctuations fines très réfringentes, presque noires à raison de cette réfringence, où on serait tenté de voir des spores. Nous verrons bientôt ce qu'il faut penser de cette assimilation.

Dans une solution de sucre candi, l'aspect est à peu près le même que dans la glycérine. Pourtant, on ne trouve pas trace d'auréole; la bactérie à l'origine est en cylindres courts ou en grains doubles très turgescents et à contours peu distincts, plus gros que partout ailleurs. Comme tout à l'heure, quelques-uns de ces boudins se feutrent en un zooglæa très régulier d'aspect, d'autres se développent en fils allongés, formant couche glaireuse à la surface. Lorsque le petit boudin, turgescent à l'origine, vieillit sous cette forme, il devient plus fin et se divise quelquefois en une série de granulations rangées en chapelet. Il en est quelquefois de même pour le long fil superficiel. A cet état, la mort est arrivée, et le microbe est devenu incapable de se reproduire.

Sur de l'amidon cuit, le développement est très facile aussi. Il n'y a à signaler ici qu'un fait qu'on observe aussi avec le sucre, mais qui est plus net avec l'amidon, c'est la formation avec le temps, à la surface, d'une pellicule d'aspect rougeâtre, continue, peu résistante, et formée d'un enchevêtrement de petits bâtonnets ténus et contournés, dont quelques-uns se transforment en chapelets de granulations.

Tous les aspects que je viens de décrire sont ceux des microbes cultivés dans des matras Pasteur, au contact de l'air en large surface. Ce microbe est, en effet,

surtout aérobie, mais on peut s'apercevoir à différents caractères, même dans ce mode de culture, qu'il est aussi anaérobie et peut devenir ferment.

Fréquemment, par exemple, le lait où l'on cultive ce microbe devient le siège, même lorsqu'il est en faible épaisseur, d'une production de bulles gazeuses. Il en est de même avec le sucre et l'amidon, mais pas avec la glycérine. Si l'on étudie les gaz dégagés, on les trouve formés d'un mélange à proportions variables d'acide carbonique qui domine toujours, et d'hydrogène, dont une portion, dans le lait, devient de l'hydrogène sulfuré et donne à la masse une odeur légèrement putride.

Mais cet état anaérobie paraît moins naturel à la bactérie que l'autre. La fermentation qui se produit alors s'arrête bientôt, pour peu que le renouvellement de l'air devienne difficile. On peut la ranimer en faisant repasser le liquide au contact de l'oxygène. Elle recommence alors, puis s'éteint de nouveau. On peut ainsi continuer jusqu'à complète disparition de la substance fermentescible. Par contre, ensemencée de prime abord dans un milieu privé d'oxygène, la bactérie ne se développe pas. Bref, semblable à cela à beaucoup d'êtres qui sont à la fois aérobies et anaérobies, elle ne prend et ne conserve l'état de ferment qu'à la condition de venir se revivifier souvent au contact de l'oxygène.

La variabilité dans la proportion des gaz de la fermentation est peut-être en rapport avec cette variation dans l'alimentation originelle en oxygène. Mais elle dépend aussi d'une autre circonstance, c'est que ce microbe s'attaque, en général, soit simultanément, soit successivement, à plusieurs des éléments présents dans le liquide où il se développe. Il est, en effet, à la fois ferment des matières albuminoïdes et des matières hydrocarbonées.

Il peut vivre aux dépens de la caséine, comme nous l'avons vu en étudiant son développement dans le lait. Nous n'avons pas signalé de coagulation, il est vrai, mais ce phénomène peut se produire si la température est un peu élevée. Le microbe sécrète donc de la présure. Quant à la caséase, elle se manifeste par la redissolution du caséum et sa transformation en une matière albuminoïde soluble dans l'eau. Mais ces deux diastases sont certainement en très petite quantité.

En même temps que la caséine est atteinte, le sucre de lait est attaqué aussi et peut même disparaître totalement. Une portion en est brûlée, une autre portion donne de l'alcool et de l'acide acétique.

L'alcool est ici, comme avec la levure, l'un des produits d'une vie à la fois aérobie et anaérobie. Il n'est plus, comme avec d'autres microbes, à l'état de produit accessoire d'une fermentation principale, et il forme, avec l'acide acétique, dont la proportion n'égale jamais la sienne, le seul résidu sensible que laisse la portion de sucre qui n'a pas été brûlée directement par le microbe. Cet alcool est en outre tout à fait pur, et s'il y a un alcool de degré supérieur, ce n'est qu'en proportions insensibles.

On observe cette production d'alcool avec le lait, le sucre et la glycérine. Toutes les fois qu'il y a de l'alcool, il y a aussi de l'acide acétique en quantités plus faibles. Provient-il d'une combustion exercée par le microbe sur l'alcool? Cela est possible. Je n'ai pourtant pu constater aucune relation simple entre

deux phénomènes, qui, si cette hypothèse était vraie, devraient marcher du même pas, à savoir la quantité d'acide formé, et la pénétration plus ou moins facile de l'air. Si l'on en fait trop arriver, on n'a pas d'alcool; si l'on en fait arriver trop peu, on n'a pas d'acide acétique. Il y a là des influences que nous chercherons à démêler dans un instant.

Pour tâcher de me maintenir, comme aération, dans un juste milieu, j'ai adopté la disposition suivante. Deux matras à fond plat, fig. 89, communiquent l'un

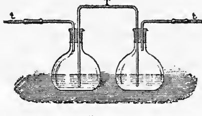


Fig. 89.

avec l'autre par un tube deux fois recourbé, ouvert à ses deux extrémités, formant siphon entre les deux, et s'enfonçant jusqu'au fond des matras. Ce siphon pénètre dans les matras par un bouchon de caoutchouc percé de deux trous, le second de ces trous est muni d'un tube droit (représenté par erreur recourbé dans la figure) réuni lui-même, au moyen d'un tube de caoutchouc, avec un autre tube court de verre bourré d'ouate. On remplit l'un des matras de sérum filtré à chaud, on l'y fait bouillir. Quand la vapeur s'est échappée pendant quelque temps par le tube droit du bouchon, on coiffe celui-ci de son tube à ouate, passé dans la flamme; on pince le caoutchouc, et la pression de la vapeur force le liquide à passer dans le second matras où l'on maintient l'ébullition un instant, puis on ferme à son tour le tube droit de ce second matras avec le tube à ouate, et on a ainsi un liquide enfermé dans un vase bien échaudé. On y ensemence, quand il est froid, la bactérie par une des tubulures.

Quand elle s'est développée, on fait passer tout le liquide d'un des matras dans l'autre, puis de celui-ci dans le premier. L'air des matras se trouve ainsi complètement renouvelé sans qu'on ait à craindre, s'il rentre lentement, que les tubes à coton laissent passer de germes. L'aération se faisant sans danger, on peut la répéter aussi souvent qu'on le veut, et la pousser très loin. Voici les résultats d'une expérience faite dans ces conditions.

230 centimètres cubes de sérum renfermant 5 p. 100 de sucre de lait ont été laissés pendant deux mois à l'étuve, et dans cet intervalle, soumis une dizaine de fois au renouvellement de l'air des flacons. Au bout de ce temps on trouve qu'il y a 2 centimètres cubes d'alcool formé, et que le liquide ne contient plus que 0,5 p. 100 de sucre de lait. Il en renfermait 5 p. 100 à l'origine. Il en a donc disparu les $\frac{9}{10}$, soit un peu plus de dix grammes, pouvant donner en alcool, s'ils avaient subi la fermentation alcoolique ordinaire, plus du double de ce qu'on a trouvé.

Le liquide est acide, et contient soit à l'état libre, soit en combinaison,

300 milligrammes d'acide acétique. Cela ne suffit pas à rétablir l'équilibre entre le sucre trouvé et le sucre introduit. Une portion de celui-ci a donc été brûlée intégralement, car on ne trouve dans le liquide rien qui la représente.

Cette expérience ne dit rien sur l'origine de l'acide acétique, qu'on peut tout aussi bien rapporter à une combustion s'exerçant sur l'alcool, qu'à une action directe sur l'aliment hydrocarboné. Tout ce qu'on peut dire, c'est qu'on rencontre quelquefois de l'acide acétique sans alcool, mais jamais d'alcool sans acide acétique. Ceci est évidemment favorable à l'hypothèse d'une action sur l'alcool, car lorsqu'il manque, on a le droit de croire qu'il a été totalement transformé ; mais l'hypothèse d'une production directe de l'acide acétique est appuyée à son tour par un certain nombre de faits, que voici :

C'est avec l'amidon qu'on rencontre le plus souvent l'acide acétique sans alcool. Ce fait est peut-être en rapport avec celui que nous signalions plus haut, de l'existence, dans ce cas, d'une couche superficielle, douée comme toutes ses congénères de facultés comburantes énergiques.

Il y a encore un cas où l'on trouve de l'acide acétique sans alcool, et ce cas mérite de fixer l'attention, c'est quand on fait vivre le microbe dans le lactate de chaux. Dans ce cas il n'y a jamais de fermentation avec dégagement gazeux. La vie anaérobie est impossible avec cet aliment hydrocarboné pour notre microbe, mais elle est facile au contact de l'air. La bactérie se développe alors en articles assez dodus, plus longs et plus gros que dans le lait, et enfermés dans une capsule hyaline étroite et peu apparente. On la trouve dans toute l'épaisseur du liquide. Peu à peu apparaît à la surface une couche demi-solide, cassante, irrégulière, formée de cristaux informes couverts de stries, solubles avec effervescence dans l'acide chlorhydrique. C'est du carbonate de chaux, résultant d'une combustion complète du lactate suivant la formule.

$$C^6H^6O^6 + 12O = 6CO^2 + 6HO.$$

Mais on trouve en même temps dans le liquide de l'acétate de chaux résultant d'une combustion moins profonde.

$$C^6H^6O^6 + 4O = C^4H^4O^4 + 2HO + 2CO^2.$$

Dans ce cas on ne trouve jamais d'alcool. Ici l'acide acétique semble bien provenir de la matière hydrocarbonée initiale sans intermédiaires, et il ne serait pas étonnant qu'il en fût de même pour le sucre.

L'*actinobacter polymorphus* est donc surtout un agent de combustion voisin des mycodermes, et pouvant dans certaines conditions se rapprocher de la levure. Ce qui confirme ce rapprochement et l'éloigne des bactéries ordinaires, c'est qu'on ne connaît pas ses spores, pas plus que celles du *mycoderma aceti*, du ferment lactique, ou du microbe du choléra des poules. Les granulations qu'on rencontre dans les articles vieillis, toutes celles dont nous avons signalé la formation dans les cultures sont mortes, ou du moins, lorsqu'on essaie la résistance à la chaleur du microbe vieilli, trouve-t-on qu'elle est la même que celle de l'être adulte. Tous deux périssent au bout d'une minute d'échauffement entre 60 et 65°.

Synthèse des faits précédents. — Si, comme semblent le démontrer les faits qui précèdent, l'alcool et l'acide acétique sont produits simultanément et concurremment par l'*actinobacter*, nous trouvons là l'exemple d'un phénomène dont nous avons signalé plus haut, aux chapitres précédents, la possibilité théorique, à savoir celui du fonctionnement physiologique d'un même être agissant de façons différentes sur une même substance, et y amenant des transformations qui aboutissent à des pertes variables d'énergie, suivant les conditions dans lesquelles la vie se poursuit.

Si l'*actinobacter* décompose le sucre à la façon de la levure de bière, l'équation

$$C^{12}H^{12}O^{12} = 2C^4H^6O^2 + 4CO^2$$

correspond à la combustion complète du tiers du carbone du sucre. Mais la formation de l'alcool peut aussi résulter d'autres équations. Si nous choisissons celles dans lesquelles il peut se dégager de l'acide carbonique et de l'hydrogène, nous trouvons pour le sucre l'équation

$$C^{12}H^{12}O^{12} + 6O = C^4H^6O^2 + 8CO^2 + 6H,$$

qui est assez d'accord avec le poids d'alcool trouvé dans l'expérience relatée plus haut, et qui correspond à la combustion complète des deux tiers du carbone de sucre.

L'acide acétique peut à son tour résulter d'équations très différentes. Nous trouvons d'abord une transformation sans dégagement gazeux, représentée par l'équation

$$C^{12}H^{12}O^{12} = 3C^4H^4O^4$$

et analogue à la fermentation lactique qui, remarquons-le, peut être produite par un être voisin de l'*amylobacter*.

Les formules

$$C^{12}H^{12}O^{12} + 4O = 2C^4H^4O^4 + 4CO^2 + 4H,$$

$$C^{12}H^{12}O^{12} + 8O = C^4H^4O^4 + 8CO^2 + 8H$$

et enfin

$$C^{12}H^{12}O^{12} + 12O = 12CO^2 + 12H,$$

comparées entre elles et avec la formule qui précède, montrent que les transformations qu'elles caractérisent correspondent à des absorptions d'oxygène inégales et à des pertes variables d'énergie. Elles sont du reste d'accord, dans leurs traits généraux, avec le caractère à la fois aérobie et anaérobie du microbe, avec le dégagement d'acide carbonique et d'hydrogène qu'il fournit, avec la fermentation qu'il est capable d'amener dans les produits qui ont assez d'énergie intérieure disponible. On comprend donc qu'elles puissent correspondre à des périodes ou plutôt à des modes de vie physiologique différents.

Ce n'est pas au fond une conception très différente de celle qui nous a montré dans la levure un être pouvant transformer et utiliser le sucre de façons très diverses; mais avec la levure, l'importance de son rôle comme ferment, la facilité avec laquelle elle le prend, font qu'on a quelque peine à se représenter son existence aérobie comme aussi physiologique que l'autre. Avec l'*actinobacter*, les transitions entre l'existence aérobie et l'existence anaérobie sont mieux mar-

quées, la gradation dans les produits de destruction de la molécule fermentescible est plus apparente. Il joue en quelque sorte dans cette chimie vivante, le rôle des combinaisons instables de la chimie minérale qui, précisément parce qu'elles sont formées en vertu d'affinités très faibles, en montrent mieux le mécanisme que les composés stables qui épuisent en nn instant l'énergie de leurs éléments composants.

Actinobacter du lait visqueux. — L'actinobacter que nous venons d'essayer de bien caractériser n'est pas le seul de la famille. Les êtres encore mal connus qui donnent la fermentation visqueuse des sucres, un ferment que nous verrons bientôt présider à la formation de la gomme de sucrerie, sont probablement voisins de celui que nous venons d'étudier. Je me suis assuré qu'il avait une parenté rapprochée avec celui qui dans les laiteries rend parfois le lait visqueux, s'il n'était pas identique avec lui.

Ce lait prend une consistance gélatineuse, s'écoule comme de l'albumine d'œuf et s'étire entre les doigts en fils très longs. Un vase qui en a contenu rend visqueux le lait qu'on y verse. Une goutte de ce lait, transportée sur du lait sain, y provoque le même phénomène. C'est un véritable ensemencement. On trouve alors au microscope une bactérie auréolée, immobile comme l'actinobacter, mais en différant en ce qu'elle communique à la masse une viscosité si grande que, sous le microscope, la goutte écrasée par la lamelle montre des stries comme une dissolution concentrée de glucose. Cette bactérie est aussi un agent de combustion, mais je n'en ai pas poussé plus loin l'étude.

M. Schmidt a décrit comme agent de la fermentation visqueuse du lait un *micrococcus*, dont le diamètre égale environ 1^{μ}, qui paraît être différent de celui que j'ai observé. Il pourrait y avoir quelque incertitude si l'on se bornait à la comparaison des formes, celui que j'ai étudié prenant quelquefois l'aspect de chaines de globules. Mais celui de M. Schmidt ne périt pas à 100°. Il ne donne aucun dégagement d'acide carbonique. S'il n'y a pas eu erreur dans l'observation de ces deux faits, qui sont tous deux un peu surprenants, on doit conclure que la viscosité du lait peut provenir de l'action de deux microbes différents. Ils se ressemblent du reste en ce qu'ils agissent tous deux sur le sucre du lait, et donnent un mucilage précipitable par l'alcool.

On a dit que le lait devenait quelquefois visqueux dès la sortie du pis de la vache. Il n'y a, *a priori*, aucune impossibilité à ce fait. Il se peut que la bactérie dont nous avons parlé plus haut ait pénétré par le canal jusque dans le pis, où son caractère anaérobie lui permettrait de vivre. Mais le plus souvent, c'est l'état de malpropreté des vases de la laiterie qu'il faut accuser. Peut-être aussi l'état visqueux du lait peut-il résulter d'autres influences. En Norvège, dans la Finlande et dans le nord de la Suède, on rend, paraît-il, artificiellement le lait gélatineux par l'action de la plante appelée grassette (*Pinguicula vulgaris*) parce qu'il se conserve plus facilement sous cet état. Il s'agit là sans doute d'une transformation dans laquelle les microbes n'ont aucune part. C'est un fait à étudier de près à l'occasion.

Autre ferment alcoolique de la glycérine.—Enfin, nous devons

signaler en terminant, comme se rapprochant sans doute de ceux qui précèdent, un autre ferment étudié par M. A. Fitz et capable de fournir de l'alcool aux dépens de la glycérine et probablement aussi aux dépens des sucres.

M. Fitz l'a obtenu en lavant une poignée de foin avec un quart de litre d'eau, ajoutant au liquide tamisé des quantités convenables de glycérine, de sels minéraux et de carbonate de chaux, et exposant le tout, après une ébullition de cinq minutes, dans une étuve à 40°. Le jour suivant, le liquide est couvert d'une couche mycodermique de bacillus entrelacés; au bout de deux jours, il est en pleine fermentation. En empruntant à ce liquide de la semence pour deux nouvelles fermentations sur 100 grammes de glycérine, on a obtenu dans un cas 25gr,8, dans l'autre 25gr,7 d'alcool ordinaire, bouillant à 78,-79°. La glycérine n'avait pas complètement fermenté, et le rendement constaté n'est pas par suite le rendement maximum. On voit pourtant qu'il est considérable et que l'action se rapproche d'une fermentation alcoolique véritable.

Il y a pourtant un acide volatil produit, mais en faible quantité. M. Fitz ne dit pas lequel. Peut-être est-ce de l'acide acétique. La fonction de ce ferment le rapprocherait alors de notre actinobacter. Mais sa forme, représentée par la fig. 90, semble très différente. M. Fitz le décrit comme un vibrion mobile, de

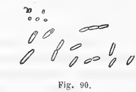


Fig. 90.

moitié moins large que son *bacillus butylicus*, et l'appelle *bacillus œthylicus*. Il y a observé la formation de spores (*a*). Il l'assimile à tort, croyons-nous, au *bacillus subtilis* de Cohn, dont le nom a fait illusion à beaucoup d'observateurs. Beaucoup d'êtres divers, n'ayant rien de commun que leur caractère effilé et ténu, ont été appelés *bacillus subtilis*. Celui de Cohn semble être surtout un aérobie, et n'aurait rien à voir avec les ferments vrais que nous étudions.

BIBLIOGRAPHIE

DUCLAUX. — Mémoire sur le lait. *Ann. de l'Institut agronomique*, 1882.
A. FITZ. — *Berichte der deusch. chem. Gesell.* XI, 1878, p. 48.
A. SCHMIDT. — *Landwirthsch. Versuchs-Stat.* XXVIII. p. 91.

CHAPITRE XLIX

FERMENTATION GLUCONIQUE

Nous avons vu deux êtres de formes analogues, aérobies tous deux, bien qu'à des degrés divers, présider, l'un à l'acétification de l'alcool, l'autre à la fermentation lactique du sucre. Nous allons en retrouver un de la même famille, doué aussi de propriétés oxydantes, et les exerçant sur des matériaux divers, parmi lesquels le mieux étudié est le glucose.

Micrococcus oblongus. Étude morphologique. — M. Boutroux en a découvert le germe dans une bière. Récemment ensemencé à la surface d'un liquide convenable, il s'y présente sous la forme de cellules ovales ou sphériques, souvent étranglées en leur milieu, très turgescentes, ayant à leur intérieur une sorte de noyau assez net, fig. 91. Leurs dimensions sont variables.

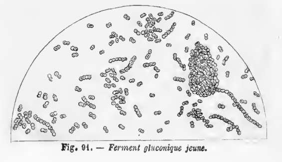


Fig. 91. — *Ferment gluconique jeune.*

Le petit diamètre atteint 3^{μ} chez les plus grosses. Elles sont ou isolées ou réunies en chapelets plus ou moins longs et sinueux, ou entassées en amas dans lesquels on retrouve comme une vague disposition géminée ou moniliforme. Aucune de ces cellules n'a de mouvements propres.

Quelques heures après l'ensemencement, on distingue à la surface du liquide un voile léger, qui devient blanc le lendemain, prend l'aspect velouté sur sa face inférieure, et le surlendemain, laisse pendre dans le liquide une multitude de petits filaments. Ce voile n'a aucun ténacité. La moindre agitation le disloque en lambeaux écailleux qui tombent au fond du vase.

Lorsque le microbe vieillit, sa grosseur diminue, son petit diamètre tombe à 1 μ, ses formes deviennent moins nettes (fig. 92), on n'y distingue plus de noyau, la forme en chapelets devient plus rare, et les amas, le pointillé fin dont il tapisse

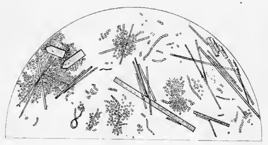


Fig. 92. — *Ferment gluconique vieux, avec cristaux de gluconate de chaux.*

le champ du microscope est de plus en plus confus. Lorsque le milieu d'ensemencement est convenable, les grains disparaissent plus ou moins complètement, et l'on trouve à leur place des filaments grêles courbes, de formes tout à fait irrégulières, et d'une longueur tout à fait indéterminée. La fig. 92 en représente quelques formes dont une recourbée en huit, le tout mélangé à des cristaux aciculaires dont il faut connaitre la forme, et dont nous allons bientôt indiquer la nature.

La différence d'aspect entre les grains et les filaments qui les remplacent est telle qu'on est toujours tenté de croire à deux espèces différentes, qui se seraient succédé dans le même liquide. Il n'en est rien. Si l'on ensemence ces filaments dans de l'eau de levure, on les voit pour ainsi dire s'égrener en chapelets d'articles étranglés comme ceux du ferment jeune. Ils représentent la forme vieillie de ce ferment, et s'ils se produisent dans certaines liqueurs et pas dans d'autres, c'est que les premières par leur nature propre, et par suite de conditions que nous allons avoir à étudier, sont mieux appropriées à l'existence du microbe, et lui permettent de vivre plus longtemps. On peut dire que la forme filamenteuse caractérise les cellules vieillies, la forme en grains indistincts, les cellules mortes jeunes. On ne connaît pas les spores dans cette espèce, pas plus que dans celle du *mycoderma aceti*, ou, en général, dans l'espèce *micrococcus* à laquelle appartiennent tout naturellement, d'après la convention faite au commencement de ce livre, les êtres de cette forme. Celui que nous étudions a été nommé par M. Boutroux, *micrococcus oblongus*.

Étude physiologique. — Oxygène. — Demandons-nous maintenant quels sont les besoins physiologiques de ce microbe, et tout d'abord, est-il aérobie ou anaérobie ?

La forme de couche superficielle qu'il prend dans les liquides d'ensemencement indique qu'il est aérobie. Il absorbe en effet l'oxygène de l'air, et le remplace par un volume d'acide carbonique qui est un peu variable, mais est toujours inférieur au tiers du volume d'oxygène absorbé, et n'en dépasse pas d'ordinaire le $\frac{1}{10}$. Nous le cultiverons donc en petit, dans les matras Pasteur, et en

grand, dans des fioles à large fond, ou le liquide sera en petite épaisseur. Celles dont la forme est représentée dans la fig. 93, sont particulièrement commodes sous ce rapport. Deux tubes, fermés chacun à leur partie supérieure par

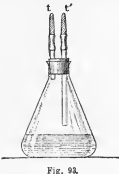


Fig. 93.

un tube bourré de coton, donnent accès à de l'air filtré à l'intérieur du matras. L'aspiration produite de l'extérieur à l'intérieur par suite de l'absorption d'oxygène suffit en général, aidée de la diffusion, pour assurer l'alimentation gazeuse du microbe. Quand le volume du liquide est trop grand, comparé à celui de l'air, on peut. en mettant l'un des tubes à coton en communication avec un aspirateur, faire circuler très lentement dans le matras un courant d'air qu'on fait d'abord barboter dans l'eau pour le rendre humide, et qui se dépouille, par son passage sur le coton, des éléments d'impureté qu'il pourrait apporter avec lui.

Un court séjour dans l'acide carbonique ou dans l'air désoxygéné est d'ailleurs sans inconvénient pour ce mycoderme. Le développement s'arrête, pour reprendre lorsqu'il y a de nouveau de l'oxygène.

Aliments minéraux et azotés. — On n'a pas réussi à cultiver le microbe sur un milieu purement minéral. On ne sait donc pas quelles sont les substances salines dont il a besoin. Pourtant il semble, d'après quelques expériences que nous rencontrerons tout à l'heure, que la chaux lui soit indispensable. Mais des expériences directes peuvent seules nous renseigner sur ce point.

Quant aux aliments azotés, c'est l'eau de levure qui les présente sous la forme la plus favorable. On peut la remplacer assez bien par de l'eau de malt, ou de leau de foin, ou des décoctions de carottes et de navets. Le petit lait et l'urine donnent de mauvais résultats.

Aliments hydrocarbonés. — *Le micrococcus oblongus* paraît pouvoir vivre aux dépens de matériaux hydrocarbonés très divers. Nous n'envisagerons d'abord que son action sur les sucres. Celui qui est le plus rapidement attaqué est le glucose, puis vient le sucre interverti, puis le sucre candi; le sucre de lait reste inaltéré.

Le milieu de culture le plus favorable est donc une dissolution de glucose

dans l'eau de levure. Les proportions les meilleures sont de un quart d'eau de levure, faite avec 10 de levure et 100 d'eau, et de trois quarts de dissolution de glucose du commerce à 22 p. 100, marquant environ 12° B. Le liquide doit être exposé à une température comprise entre 30 et 35°. Le microbe peut, il est vrai, se développer même à 10°, mais son action est alors très lente; à 37° son développement est pénible, il devient impossible à 40°. Une exposition de cinq jours à cette température suffit même pour tuer le microbe; à 53°, il ne faut que dix minutes pour amener la mort du microbe vieux; s'il est jeune, il faut dix minutes à 60°.

Lorsque l'on rassemble pour une culture les conditions les plus favorables, que nous venons d'indiquer, et qu'on sème le microbe, on voit l'action commencer de suite. Le voile se développe, et la réaction neutre du liquide est remplacée par une réaction acide qui augmente de plus en plus. Mais l'acidité ne dépasse jamais une certaine limite, variable avec la nature du liquide, et en général éloignée de celle qui correspondrait à la transformation complète du sucre employé. C'est que, comme le ferment lactique, le *micrococcus oblongus* est gêné dans son développement par l'acidité qu'il crée autour de lui, et ici encore, on rendra l'action plus facile et plus complète en ajoutant au préalable, à la liqueur, un peu de craie destinée à la maintenir alcaline ou au moins faiblement acide.

Cette addition de craie se fera facilement en l'ajoutant au préalable dans le matras de la fig. 93, et en la stérilisant, par séjour dans une étuve à 130°, en même temps que le matras lui-même. Le matras refroidi, on y introduit, comme nous savons le faire, au moyen d'une pipette flambée, le liquide stérilisé à part; on s'assure, par une exposition de durée convenable à l'étuve, qu'aucune impureté n'a pénétré dans le liquide, et on l'ensemence seulement après cette épreuve.

On pourrait remplacer le carbonate de chaux par du carbonate de magnésie, de baryte, de strontiane, ou encore de zinc; le carbonate de plomb même agirait comme les premiers, si le sel de plomb n'était pas un poison pour le micrococcus. C'est qu'il n'y a là en jeu qu'une question de saturation de l'acide. Cependant, en présence du carbonate de chaux, même lorsqu'on n'en met qu'une dose insuffisante, le degré d'acidité auquel le microbe peut amener le liquide est plus grand que dans un liquide sans carbonate. Comme il n'est pas douteux que ce degré maximum ne dépende de l'état de santé du microbe, on doit admettre, et c'est là l'expérience à laquelle nous faisions allusion plus haut, que les sels de chaux sont utiles au développement du *micrococcus oblongus*.

Processus de la fermentation. — Une fermentation étant mise en train comme nous venons de le dire, on voit au bout de trois ou quatre jours quelques bulles gazeuses sous le voile de *micrococcus*, et en agitant la craie déposée au fond du vase (ce qui paraît n'avoir aucun inconvénient pour la marche de la fermentation, bien qu'on disloque le voile), on en voit sortir des bulles d'acide carbonique. Ce gaz provient uniquement de l'attaque de la craie par l'acide produit. Il ne s'en dégage jamais quand il n'y a pas de carbonate de chaux. Malgré la craie, l'acidité du liquide est toujours notable, ce qui témoi-

gne que l'acide est faible et n'attaque pas facilement le carbonate de chaux. Au bout de dix-huit à vingt jours environ, on n'observe plus de dégagement gazeux, même en agitant la craie. L'action n'est pourtant pas entièrement terminée. Vers le vingt-cinquième ou vingt-sixième jour, si le liquide a le degré de concentration que nous avons indiqué, on voit se déposer des cristaux au-dessus de la craie. Ces cristaux sont aciculaires, en général très ténus, quelquefois en tablettes allongées terminées ou non par des pointements. La fig. 92 les représente assez bien. A ce moment, on constate souvent un nouveau dégagement de gaz pendant l'agitation. L'épaisseur de la couche de cristaux augmente de jour en jour. Au bout d'un mois environ, il n'y a plus de dégagement gazeux par l'agitation, et les cristaux sont tellement abondants qu'ils ne laissent au-dessus d'eux qu'une très petite épaisseur de liquide limpide. La fermentation est alors finie. Si l'on ouvre le vase, on sent une odeur particulière, assez faible, voisine de celle du lait. La saveur est faible, également un peu laiteuse, mais nullement sucrée.

Produits de la fermentation. — La fermentation ne donne ni alcools ni acides volatils. Le sel en aiguilles est le sel de chaux d'un acide auquel M. Boutroux a trouvé la formule $C^{12}H^{12}O^{14}$. Cette formule est la même, d'un autre côté, que celle d'un acide que MM. Hlasiwetz et Habermann ont obtenu en 1870, en faisant absorber du chlore à du glucose, et en remplaçant ensuite le chlore par l'hydrogène au moyen de l'oxyde d'argent. Ils ont donné à cet acide, obtenu évidemment par une action oxydante, le nom d'*acide gluconique*. Pour rappeler l'origine du sien, M. Boutroux l'a appelé *acide zymogluconique*. Il est probable que les deux acides sont identiques, sauf peut-être une différence dans les pouvoirs rotatoires, que la fermentation respecte certainement plus dans le glucose que l'action du chlore. Une autre différence résulte de ce que l'acide gluconique réduit la liqueur de Fehling, comme le glucose, tandis que l'acide zymogluconique, à l'état pur, semble sans action; mais comme la matière première réduit elle-même le réactif cupropotassique, et qu'elle est difficile à séparer complètement du produit de la réaction, il se peut que la réduction observée par MM. Hlasiwetz et Habermann soit due à une impureté. Peut-être aussi cette réduction est-elle en relation avec la différence supposée dans les pouvoirs rotatoires. En tout cas, il n'y a jusqu'ici aucune raison sérieuse de considérer ces deux acides comme différents.

La formation de l'acide zymogluconique aux dépens du glucose s'explique facilement par la formule suivante.

$$C^{12}H^{12}O^{12} + 2O = C^{12}H^{12}O^{14}$$

M. Boutroux s'est assuré que cette formule représente bien la réalité, et que l'action du microbe est par conséquent une simple oxydation au moyen de l'oxygène de l'air. Quant à l'acide carbonique dégagé, qui est d'ordinaire en petite quantité, on peut l'attribuer, comme nous l'avons fait pour le *mycoderma aceti* et le *mycoderma vini*, au travail respiratoire du microbe, qui vit et se développe aux dépens d'une partie des matériaux de la liqueur. Il ne peut le faire qu'en en transformant une partie en eau et en acide carbonique.

Micrococcus oblongus et mycoderma aceti. — Le microbe que nous étudions ressemble, comme on voit, au *mycoderma aceti* par sa forme, son mode de développement en voiles superficiels, ses propriétés oxydantes, et ses allures générales. Ces ressemblances n'impliqueraient-elles point une parenté, ou même une identité absolue. C'est une question que M. Boutroux a essayé de résoudre, et sur laquelle, à raison de son importance, nous devons insister un instant.

Cherchons tout d'abord ce que devient le *micrococcus oblongus* sur un liquide alcoolique. En l'ensemençant sur de l'eau de levure additionnée de 2,5 p. 100 d'alcool environ, et acidifiée avec $\frac{1}{1000}$ d'acide tartrique, on le voit se développer encore sous forme de voile, dont les articles sont plus grêles, moins gonflés, plus serrés les uns contre les autres que lorqu'ils vivent sur le sucre, mais conservent leur forme de cellules ovales étranglées par le milieu. En même temps l'alcool s'acétifie. Le titre acide paraît même pouvoir s'élever, lorsqu'on opère avec du vin ou de la bière étendue d'eau, au niveau des vinaigres ordinaires. Enfin, l'acide formé paraît être exclusivement de l'acide acétique, que M. Boutroux aurait probablement trouvé souillé d'une trace d'autres acides gras, s'il l'avait soumis aux procédés plus délicats que nous avons appliqués plus haut à l'étude des vinaigres.

Ainsi le *micrococcus oblongus* agit sur les liquides alcooliques comme le *mycoderma aceti*. Voyons maintenant comment se comporte le *mycoderma aceti* au contact du sucre.

Un mycoderme trouvé sur du vin rouge s'est développé sur de l'eau de levure sucrée en y prenant d'abord des formes irrégulières, qui ont disparu dans les générations ultérieures, et en y développant une acidité qui est restée faible. En faisant la culture en présence de la craie, on voyait ce liquide se remplir d'aiguilles cristallines et identiques d'aspect à celles de la figure 92, qui sont celles de la fermentation normale. Le rapport de la chaux dissoute au glucose disparu, qui donne une mesure grossière de l'équivalent de l'acide formé, était le même que dans la vie du micrococcus au contact du sucre.

Ainsi les deux êtres exercent des actions identiques, qui paraissent ne dépendre que de la nature du substratum, et qui passent de l'une à l'autre sans qu'il soit besoin d'une adaptation préalable, car après plusieurs générations sur de l'eau sucrée ou de l'alcool, les deux microbes se comportent de la même façon quand on les sème sur de l'alcool ou de l'eau sucrée. La première culture du *mycoderma aceti* sur un milieu sucré présentait les mêmes caractères chimiques que la treizième, et ces caractères étaient les mêmes que ceux du micrococcus, soit que ce dernier eût toujours vécu sur les milieux sucrés, soit qu'il eût été cultivé préalablement huit fois dans des milieux alcooliques où il faisait fonction de ferment acétique.

D'autres variétés de *mycoderma aceti* ont présenté les mêmes ressemblances d'action physiologique avec le *micrococcus oblongus*. Que faut-il en conclure? Uniquement ceci, que le *micrococcus oblongus* est une espèce du genre *mycoderma aceti*. Nous savons déjà que ce genre en compte plusieurs, différentes par leurs formes, leurs dimensions, l'aspect de leurs voiles, la puissance de leurs

actions oxydantes. Le *micrococcus oblongus* en est une nouvelle, et quand la science sera faite sur ces questions, les noms de ces êtres divers devront traduire leur parenté et leurs diverses allures, leur genre prochain et leurs différences spécifiques. A ce point de vue, leurs noms actuels sont mal choisis. Le mot *micrococcus* ne dit rien sur la propriété de ces êtres de se développer en voiles superficiels, ce qui implique l'existence chez eux d'une propriété oxydante. De son côté, le mot *mycoderma aceti* a le tort de définir une fonction chimique, qui bien qu'importante, n'est pas, comme nous venons de le voir, essentielle chez l'être qui la possède. Mais la science, nous l'avons dit, n'est pas encore assez avancée pour songer à se faire une nomenclature. Tant que les faits découverts et les êtres étudiés sont peu nombreux, ils supportent une classification artificielle; quand nos connaissances seront plus multipliées, il faudra songer à les coordonner. En d'autres termes, une classification naturelle n'est en général nécessaire que lorsqu'elle commence à devenir possible. Jusqu'à ce moment, il faut, suivant l'expression de Buffon, amasser des faits pour avoir des idées.

BIBLIOGRAPHIE

L. Boutroux. — Sur une fermentation nouvelle du glucose. *Ann. de l'Éc. normale supér.*, 1880.

CHAPITRE L

AUTRES FERMENTATIONS DES SUCRES

Nous nous proposons de résumer, dans ce chapitre, l'histoire d'un certain nombre de modes de fermentation du sucre moins connus que les précédents, soit dans leur cause animée, soit dans leur mécanisme, soit dans leurs produits. Nous nous bornerons à ceux qu'on a pu rattacher, plus ou moins nettement, à la présence d'une espèce unique de microbes; quant à ceux dans lesquels rien ne prouve qu'il n'en soit pas intervenu plusieurs, et dont l'histoire se résume à dire que dans telles et telles circonstances mal définies, le sucre donne tels ou tels produits de décomposition, il serait trop long et il est presque inutile de s'en préoccuper. La seule chose qu'ils nous apprennent est la possibilité de faire dériver par voie de fermentation certaines substances du sucre. Sans vouloir faire fi de cet enseignement, ce que nous savons déjà nous prouve que les voies de dérivation sont infinies, ouvertes quelles sont du côté des corps dont la molécule est moins complexe que celle du sucre, et du côté des corps qui sont au contraire, beaucoup plus compliqués, car nous savons qu'avec du sucre on peut faire de la matière albuminoïde. Ce qu'il y a d'important au point de vue où nous nous sommes placés, ce n'est pas le point de départ, ni le point d'arrivée, c'est le mécanisme fonctionnel qui fait passer de l'un à l'autre, et partout où ce mécanisme aura été laissé dans l'ombre ou aura passé inaperçu, partout où il sera resté emmêlé dans un ensemble trop complexe pour que nous puissions le saisir, nous avons le droit de passer sans nous arrêter, en attendant le moment où un travail nouveau nous montrera le fil ou les fils qu'il fallait suivre.

Cette élimination, très nette en théorie, est un peu plus délicate dans la pratique. Elle implique choix et responsabilité. Je l'ai faite en me préoccupant non des personnes mais des choses, et le cadre que je me suis imposé m'a conduit à beaucoup réduire le nombre des travaux à résumer. Voici les seuls dont j'aie cru devoir dire quelques mots.

FERMENTATION VISQUEUSE ET MANNITIQUE

On sait depuis longtemps qu'un certain nombre de jus naturels, tels que ceux d'oignon, de betterave, de carotte, et aussi les juleps des pharmaciens, sont capables de subir une transformation qui les rend visqueux. En même temps se précipite quelquefois une substance blanche et cristalline, qui est de la mannite.

M. Péligot a reconnu que cette transformation pouvait être provoquée dans une dissolution de sucre de canne, en y transportant un peu du dépôt d'une fermentation visqueuse déjà en train. M. Pasteur, en faisant l'étude microscopique de ce dépôt, y a trouvé deux sortes de cellules.

Les unes sont formées de tout petits globules ronds, de $1^{\mu},2$ à $1^{\mu},4$ de diamètre, réunis en chapelets ou isolés à l'intérieur du liquide. On trouve souvent à côté d'autres cellules plus grosses, en général irrégulières, ayant un peu plus que les dimensions des globules de levure de bière. La fig. 94 représente assez nettement ces deux sortes de cellules, et donne une idée de leurs grandeurs comparatives.



Fig. 94.

Nous sommes conduits à penser, par suite, qu'il y a en général dans ces liquides complexes deux fermentations superposées. M. Pasteur s'est assuré, en effet, que le ferment en chapelet de grains donnait de la matière visqueuse, de la mannite et de l'acide carbonique, tandis que les gros globules donnaient de la matière visqueuse sans mannite.

La matière visqueuse est l'élément commun de ces deux fermentations, elle semble être identique dans les deux, mais c'est un point qui n'a pas encore été étudié d'assez près et qui reste un peu douteux. Quoi qu'il en soit, M. Béchamp l'appelle *viscose;* c'est une substance d'une grande blancheur, aisément pulvérisable, n'ayant nullement l'apparence ni, comme nous allons le voir, les propriétés de la gomme, avec laquelle on l'a longtemps confondue. L'alcool la précipite de sa solution aqueuse en une masse étirable en longs fils. Elle ne réduit pas le réactif de Fehling, ce n'est donc pas un glucose. Sa composition, lorsqu'elle a été séchée à 140° dans le vide, est celle de la matière amylacée $C^{12}H^{10}O^{10}$. Son pouvoir rotatoire est voisin de celui de la fécule soluble. Elle donne, sous l'action de l'acide nitrique, les mêmes dérivés que la fécule; avec l'acide concentré, elle donne de l'acide oxalique sans production d'acide mucique. L'acide sulfurique étendu agit sur elle à l'ébullition plus lentement que sur la fécule, en donnant des dextrines que la levure ne fait pas fermenter, et un glucose fermentescible, très voisin de celui de la fécule.

La production de ce corps et de mannite aux dépens du sucre s'explique par l'équation

$$25C^{12}H^{12}O^{12} = 12C^{12}H^{10}O^{10} + 12C^{12}H^{14}O^{12} + 12CO^{2} + 12HO.$$

La formation de viscose sans mannite, en présence des grosses cellules irrégulières signalées plus haut, résulterait de même de l'équation

$$12C^{12}H^{12}O^{12} = 12C^{10}H^{10}O^{10} + 24HO,$$

et l'on peut remarquer qu'en retranchant membre à membre les deux équations qui précèdent, on en obtient une troisième, qui précise la transformation du sucre en mannite sans viscose

$$13C^{12}H^{12}O^{12} + 12HO = 12C^{12}H^{14}O^{12} + 12CO^{2}.$$

Jusqu'à quel point ces divers procès de décomposition se mêlent-ils dans la réalité? Sont-ils chacun le fait d'une seule espèce vivante, ou bien une même espèce peut-elle, comme nous en avons vu des exemples aux chapitres précédents, donner suivant les cas divers ordres de produits? C'est ce qu'on ignore. Les proportions de mannite et de viscose sont essentiellement variables, et ne se rapprochent que rarement des proportions exigées par les équations qui précèdent. Ces équations ne sont d'ailleurs, elles-mêmes, que des approximations insuffisantes, puisqu'elles ne tiennent pas compte de la présence de l'être vivant. Bref, nous avons affaire là à une question à peine ébauchée et qui réclame de nouvelles études.

Peut-être révèleront-elles une relation entre cette fermentation et celle que nous allons voir donnant naissance à de la gomme de sucrerie.

FORMATION DE LA GOMME DE SUCRERIE

On voit quelquefois, dans les sucreries et distilleries, des dissolutions de mélasse se tranformer en masses gélatineuses compactes, composées de grumeaux insolubles empâtés dans une liqueur visqueuse. Une cuve où s'est produit ce phénomène le reproduit régulièrement, à moins qu'elle ne soit nettoyée à fond ou qu'elle ne reçoive des liquides d'une autre composition. D'un autre côté, quelques grammes du liquide visqueux, mélangés à une nouvelle dissolution de mélasse, y provoquent à peu près sûrement une transformation analogue à celle du liquide d'où ils sortent. La matière gélatineuse formée porte en France le nom de gomme de sucrerie, en Allemagne celui de *frai de grenouille.* (Froschlaich.)

Les conditions dans lesquelles on en observe la formation semblent bien indiquer qu'elle est le résultat de l'action d'un microbe M. Jubert paraît avoir le premier pressenti cette vérité. M. Texeira Mendès, chimiste au Havre, a, le premier, observé au microscope et a décrit avec soin les traits essentiels de la structure de ces masses gommeuses, il y a vu un ferment formé de petits grains sphériques, entouré d'une gangue, et l'a rapproché des Nostocs; M. Cienkowski,

professeur à l'université de Kharkow, qui a aussi bien vu l'origine animée de ces productions gélatineuses, les a décrites, à tort, comme pouvant être produites indifféremment par « les formes les plus diverses de la famille des bactéries, toutes celles qu'on a distinguées sous les noms de *micrococcus*, *torula*, *bacterium bacillus* et *vibrion* ». C'est M. Van Tieghem qui en a, le premier, bien précisé la morphologie et le rôle physiologique.

Examiné à l'état jeune, l'être qui produit la gomme de sucrerie se présente sous la forme d'un tube gélatineux dont l'axe est occupé par un chapelet de très petits grains sphériques, en voie de bipartition active. Le grain s'allonge, s'étrangle en son milieu, et se divise en deux par une cloison. En même temps que chacune des nouvelles cellules arrondit sa surface de contact, la lamelle moyenne de la cloison se gélifie et se gonfle, de façon à séparer l'un de l'autre les deux grains sphériques, et à confluer latéralement avec la gaine extérieure qui est devenue ovale. Puis chacune des deux nouvelles cellules s'allonge à son tour, se sépare en deux grains qui s'isolent, et on a quatre grains occupant l'axe d'une gaine gélatineuse allongée.

Le même phénomène se continuant, on arrive à de longs boudins réfringents qui ne restent ni circulaires ni rectilignes; mais se recourbent de façons très irrégulières en conservant toujours dans leur axe les chapelets de grains qui leur ont donné naissance. Ces tubes, pelotonnés dès l'abord sur eux-mêmes, forment, en se développant et se segmentant, des corps muqueux dont la grosseur augmente peu à peu, et dont la surface est vermiculée et contournée comme celle du cerveau. Puis ces corps muqueux s'agglomèrent en masses mamelonnées de plus en plus volumineuses, formées de corpuscules polyédriques réunis en une sorte de parenchyme. L'aspect général qu'ils présentent alors et leur structure intérieure les rapprochent de la famille des *nostocs*. M. Van Tieghem a donné à l'être qui les produit le nom de *Leuconostoc*, qui indique à la fois sa ressemblance anatomique avec le nostoc et la principale différence qui l'en sépare, à savoir l'absence chez lui de chlorophylle, et il a ajouté à ce nom l'épithète de *mesentéroïdes*, pour accuser les rapports d'aspect de la masse vermiculée avec les replis du mésentère. Il a observé chez lui la formation de spores. Quand la plante a cessé de croître, certains grains des chapelets qui la forment grossissent plus que les autres en demeurant sphériques, et dans chacun se forme une spore qui le remplit complètement. Ces spores terminent quelquefois les chapelets, quelquefois sont intercalées dans sa longueur, mais sont toujours séparées par des grains non sporifères.

Quand la spore est faite, la gangue se ramollit et se dissout peu à peu, les chapelets de grains se dissocient et les spores s'isolent. Elles ont alors de $1^{\mu}8$ à 2^{μ}, les grains ordinaires ayant de $0^{\mu},8$ à $1^{\mu},2$. Portées dans un liquide neuf, les spores font éclater leur cuticule extérieure, la membrane enveloppante moyenne se gonfle, forme une épaisse enveloppe gélatineuse autour du grain central, qui s'allonge et se multiplie comme nous l'avons vu plus haut.

Cet être se développe très facilement dans les sucs végétaux renfermant du sucre de canne, et aussi dans des solutions simples de sucre de canne dans l'eau, additionnées de sels minéraux, nitrates et phosphates. Il préfère en géné-

ral les liquides neutres, avec un peu de carbonate de chaux, et une température de 30°. Il résulte des faits cités par M. Durin que, sous son influence, le sucre est interverti, sans doute par l'action d'une diastase, et que de ses deux éléments, le glucose est seul à pouvoir servir à la nutrition du microbe, tandis que le lévulose est respecté et reste dans la liqueur. Le tout s'accomplit sans dégagement de gaz. Quant à l'acide acétique et aux autres produits signalés par M. Durin, ils sont sans doute le résultat d'une fermentation concomitante. Il n'y a donc pas, comme le croyait ce savant, fermentation cellulosique du sucre de canne, il n'y a qu'un dédoublement du sucre, avec destruction du glucose par une plante qui peut s'en nourrir et en former ses tissus.

Ce qu'il y a de curieux, pourtant, c'est que le poids de plante est une fraction assez notable du poids de sucre détruit, et peut atteindre, à l'état humide il est vrai, la moitié ou les deux tiers du poids de glucose consommé. Or la matière des tubes est bien différente du sucre. Elle est insoluble à l'ébullition dans l'eau, même fortement alcalinisée par de la soude caustique, ce qui prouve en passant qu'elle ne saurait être rapprochée des composés pectiques. Une longue ébullition dans de l'eau acidulée par l'acide sulfurique la dissout et la convertit en dextrine, puis en glucose, ce qui la rapproche de la cellulose. Ce qui confirme ce rapprochement, c'est que l'acide azotique étendu transforme la gomme de sucrerie en acide oxalique, que l'acide monohydraté ne la dissout pas et en fait du pyroxyle. Pourtant, la liqueur de Schweitzer ne la dissout pas. Les filaments non encore agrégés, qui entourent les grumeanx et qui rendent le liquide visqueux, peuvent être précipités par l'alcool, et présentent alors les mêmes réactions générales que les grumeaux eux-mêmes. A cette matière cellurosique viennent s'ajouter d'autres substances dont la partie soluble dans l'alcool contient, d'après M. Scheibler, de la mannite, des acides gras, de l'acide glycérophosphorique et un principe azoté, la bétaïne ou oxynévrine. Il y a sans doute, escortant ces principes, toute la série des substances azotées dont s'accompagne nécessairement la vie de toute cellule. Mais la cellnlose est le produit dominant.

Cette formation de cellulose aux dépens du sucre n'a pas de quoi nous surprendre. Tous les ferments du sucre nous en ont rendus témoins, mais elle s'accomplit ici dans des proportions peu communes, et on comprend que M. Durin s'y soit trompé et l'ait envisagée comme résultant d'une fermentation vraie du sucre. Les détails dans lesquels nous sommes entrés prouvent qn'il n'en est pas ainsi. Mais il n'y en pas moins dans la physionomie générale de tous ces faits un point qui n'a pas été remarqué et que nous devons mettre en lumière.

Les petits grains sphériques qui sont l'être vivant, s'entourent, à distance, d'une sorte de gangue, d'une matière extra-cellulaire, dont le poids, à première vue, semble notablement supérieur au poids des cellules qui l'ont produite, et cette matière a une composition très différente de celle de la substance en solution dans le liquide qui la baigne. Comment peut-elle se produire? Est-elle le résultat d'une sécrétion de la cellule, analogue à la formation subéreuse qui donne le liège? Est-elle le résultat de l'action d'une diastase, comme M. Durin a cru à tort le démontrer? On ne le sait. Toujours est-il qu'elle existe, et qu'après avoir tant de fois signalé les analogies de propriétés entre les cellules des êtres

supérieurs et celles des infiniment petits, nous avons le droit d'y voir l'image de la formation de la cellulose dans les végétaux, de l'épaississement graduel des cellules fibreuses, plus généralement de ces actions dans lesquelles l'élément vivant, sans changer de forme ni de dimension, sans se développer dans le sens ordinaire du mot, se fait une couverture de plus en plus épaisse d'une matière morte et incapable de se reproduire. La formation des écailles, des poils, des ongles, des enveloppes ligneuses ou cornées de certains fruits, relèvent évidemment de cet ordre de phénomènes. On pourrait en citer d'autres exemples: ceux-ci suffisent, puis qu'il ne s'agit encore que d'une analogie qui était bonne à signaler, mais sur laquelle il ne faut pas insister.

BIBLIOGRAPHIE

Braconnot. — *Ann. de chim.*, 1re s., LXXXVI, p. 97, 1813.

Desfosse. — *Journal de pharmacie*, XV, p. 604, 1829.

François. — *Ann. de chim. et de phys.*, 2e s., t. XLVI, p. 212, 1829.

Pelouse et J. Gay-Lussac. — *Ann. de chim. et de phys.*, 2e s., t. LII, p. 410, 1833.

Kircher. — *Annalen der Chem. und Pharm.*, t. XXXI, p. 337.

Tilley et Maclagan. — *Philos. magaz.*, XXVIII, p. 12.

Boutron-Charlard et Fremy. — *Comptes rendus*, XII, p. 708, 1841.

Péligot. — *Traité de chim. de Dumas*, t. VI, p. 335, 1843.

Pasteur. — *Bull. de la Soc. chim. de Paris*, 1861, p. 30.

— *Comptes rendus*, 2, LXXXIII, p. 176, 1876.

Béchamp. — Sur la viscore, ou substance gommeuse de la fermentation visqueuse. *Comptes rendus*, t. XCIII, p. 78, 1881, et *Ann. des sc. nat.* t. VII.

Scheiber. — Vereinzeitschrift fur die Rubenzucker Industrie, p. 24, 1874, et *Journal des fabricants de sucre*, nov. et déc. 1874.

Jubert. — Note sur les gommes de sucrerie. *Journal des fabricants de sucre*, 31 déc. 1874.

Texeira-Merseès. — *Journal des fabricants de sucre*, 22 avril 1875.

Durin. — Sur la fermentation cellulosique du sucre de cannes. *Ann. des sc. nat. bot.* 1877.

Van Tieghem. — Sur la formation de la gomme de sucrerie. *Bull. de la Soc. botanique* 1878.

CHAPITRE LI

FERMENTS DE L'AMIDON

La destruction de l'amidon par les ferments est subordonnée à une liquéfaction préalable opérée par une diastase. Nous en connaissons déjà une douée de cette propriété, c'est l'amylase, que nous avons étudiée au chapitre XII, et qui transforme l'amidon cuit en dextrine et maltose. Est-elle la seule? Cela n'est pas probable. Nous allons en effet rencontrer, dans la fabrication du *kôji* japonais, l'action d'une diastase qui donnant tout d'abord, comme l'amylase, du maltose aux dépens de l'amidon cuit, finit par en faire du glucose. Or l'amylase de l'extrait de malt est, comme le prouvent les résultats de M. Sullivan, confirmés par les recherches de Brown et Héron, incapable de pousser l'hydratation de l'amidon au delà du terme maltose.

De plus, l'amylase du malt et la diastase du kôji sont tout à fait sans action apparente sur l'amidon cru. Il serait intéressant de décider si cette impuissance est absolue. Le fait de la dissolution et de la liquéfaction de l'amidon, pendant la germination des graines, exigerait alors l'action d'une diastase nouvelle, capable de le dissoudre dans son état actuel et sans cuisson préalable.

L'action des acides produits pendant la germination, et qu'on a souvent invoquée comme pouvant remplacer l'action de la cuisson, est incapable de jouer ce rôle. Nous avons vu en effet que les effets de l'amylase étaient plutôt contrariés qu'aidés par la présence des acides. De plus, la liquéfaction de l'amidon cru s'opère souvent dans des milieux tout à fait alcalins. Tel est le cas général, par exemple, dans les phénomènes de digestion des céréales chez les granivores et les herbivores.

Il y a donc, dans l'état actuel de la science, des raisons sérieuses d'admettre l'existence d'une diastase dissolvante de l'amidon cru. C'est sans doute cette diastase que nous allons rencontrer dans ce chapitre, mise en œuvre par les bactéries. Est-elle à son tour identique à celle que nous étudierons dans le prochain chapitre, comme pouvant dissoudre la cellulose. Non, sans doute, puisque nous verrons de l'amidon rester inaltéré dans des tranches de pomme de terre dont tout l'amidon a disparu. Voilà donc un certain nombre de diastases, encore mal connues, bien qu'elles interviennent dans des phénomènes très vulgaires

et très journaliers. L'ignorance où nous sommes à leur sujet va introduire une grande part d'incertitude dans tous les travaux que nous aurons à étudier dans le courant de ce chapitre.

Nous allons examiner d'abord un mode de transformation de l'amidon, dans lequel la production d'une diastase est réalisée par une mucédinée, par une action analogue à celle que nous avons rencontrée au chapitre XVII. C'est la fabrication du kôji, sur laquelle nous avons des renseignements fntéressants fournis par M. Atkinson.

FABRICATION DU KÔJI

La matière première de cette fabrication est le riz, qu'on débarrasse par un battage et un vannage de ses enveloppes extérieures, et qu'on bat ensuite légèrement dans un mortier de bois avec un marteau de bois, de façon à éliminer la pellicule mince, adhérente au grain. Le battage brise un grand nombre de grains. On sépare ceux qui ne sont pas entiers et qui ne donneraient qu'un produit inférieur. Les autres sont mis à tremper toute une nuit, puis chauffés à la vapeur jusqu'à ce qu'il soient tendres et élastiques. On les jette alors sur des nattes étendues sur le sol, et des ouvriers les retournent continuellement, de façon à les empêcher de s'agglomérer en grumeaux, jusqu'à ce qu'ils soient froids et secs.

C'est dans cette masse, granuleuse à la fois et pulpeuse qu'on va développer une diastase amylacée, de façon à pouvoir s'en servir ensuite comme le brasseur se sert de malt pour transformer de l'amidon en sucres capables de fermentation alcoolique. Il y a cette différence que, dans le malt, c'est le travail de la germination qui développe la diastase, tandis qu'il ne peut être question d'aucune germination dans la fabrication du kôji, où le grain de riz est cuit à l'avance. Le côté curieux de cette fabrication est précisément que l'agent producteur de diastase est une mucédinée, analogue à celle dont nous avons décrit au chapitre III l'un des modes de fructification, analogue aussi à l'*aspergillus niger*, dont nous avons écrit l'histoire. La mucédinée du kôji est l'*eurotium orizeæ*, décrit pour la première fois par M. Ahlburg.

On mélange une petite mesure de spores de cette plante avec une certaine quantité de riz sec, et on sème ensuite ce mélange sur le reste du riz, comme un cultivateur éparpille la semence sur le sol. On replie alors les nattes, on y agite le riz pour assurer une répartition régulière de la semence, et on le porte au germoir.

Ce germoir, d'une construction plus ou moins grossière, est l'analogue du germoir des brasseries. C'est en général une cave ou un cellier voûté, où l'on peut maintenir de l'humidité dans l'air et une certaine constance dans la température. On ne la chauffe qu'au commencement de la saison de fabrication. La température s'y maintient ensuite d'elle-même à un niveau supérieur à celui de l'air ambiant, par la chaleur qui se développe dans la masse de riz, à mesure qu'elle est envahie par la moisissure.

C'est en effet à une véritable culture de la mucédinée que nous allons assister.

Le riz est d'abord abandonné à lui-même en tas recouverts de nattes pendant une nuit. Le lendemain, on l'asperge d'eau et on l'étale en surface sur de petites claies en bois placées sur le plancher du germoir : sa température s'élève constamment dans cet intervalle, même après qu'on l'a mis en couches minces. Au bout de vingt-quatre heures, c'est-à-dire le troisième jour, on soulève les claies sur des tréteaux et on les remplace par les claies renfermant le kôji du second jour. La production est ainsi régulière et la marche continue.

Au commencement du troisième jour, les grains de riz offrent un aspect légèrement laineux, ce qui indique que les spores se sont déjà développées et ont donné leur mycélium. On réunit le riz en petits tas sur chaque claie. La végétation s'y active et y produit un échauffement quelquefois rapide, que l'on combat, lorsque c'est nécessaire, en étalant le riz avec les mains de façon à le faire refroidir. Pendant cette période, le mycélium se développe beaucoup. Ses longues fibres soyeuses relient les grains entre eux, et le lendemain on trouve le riz en gâteaux. On le retire et on le conserve en baquet jusqu'au moment de la vente.

Il est facile de prévoir qu'une germination aussi active s'accompagne d'une forte absorption d'oxygène. Il faut en effet soumettre la cave ou germoir à une ventilation énergique, très active et suffisante en hiver, à cause de la différence de la température entre l'air extérieur et l'atmosphère de la cave, toujours voisine de 27°, mais qui en été ne serait possible que si la température du germoir s'élevait à un degré dangereux. Aussi la fabrication du kôji est d'ordinaire interrompue en été.

A cette absorption d'oxygène doit correspondre à son tour une combustion assez intense. 100 parties de riz blanchi donnent 101 parties de kôji, mais le riz ne contient que 14 p. 100 d'eau et le kôji 29,5 p. 100, c'est-à-dire plus du double. De ces nombres, il est facile de conclure que le riz, en se transformant en kôji, a perdu environ 11 p. 100 de sa matière sèche. La perte porte surtout sur l'amidon et est plus forte que celle qui correspond à la germination de l'orge, qui n'est que de 2,3 à 2,6 p. 100.

Comme pour l'orge germé, la composition de la matière a changé, et les analyses suivantes peuvent donner une idée de la transformation qui s'est produite.

Le riz dépouillé et cuit à la vapeur renferme de 12 à 14 p. 100 d'eau. Séché à 100°, il présente la composition suivante :

Amidon, comprenant sucre et dextrine	83,20
Corps gras	1,21
Matières albuminoïdes	8,10
Cellulose (par différence)	6,58
Cendres	0,91
	100,00

Ce riz n'abandonne à l'eau froide ou chaude qu'une très petite quantité de matériaux solubles, environ 1 à 2 p. 100 de matériaux hydrocarbonés, formés de sucre et de dextrine, et le quart environ des matières albuminoïdes. Tout autres sont les conditions, quand il est transformé en kôji, comme le montrent les analyses suivantes.

Le kôji séché à 100° renferme :

Matières solubles dans l'eau. .	37,76 p. 100 formées de	Dextrose.	25,02
		Dextrine (par différence). .	3,88
		Matières albuminoïdes. . .	8,34
		Cendres solubres.	0,52
Matières insolubles dans l'eau.	62,24 p. 100 formées de	Matières albuminoïdes. . .	1,50
		Cendres insolubles.	0,09
		Corps gras.	0,45
		Cellulose.	4,20
		Amidon (par différence). . .	56,00
	100,00		100,00

On voit non seulement qu'une portion de l'amidon est devenue de la dextrine et du glucose, mais encore qu'unc forte proportion des matières albuminoïdes primitivement insolubles dans l'eau est devenue soluble dans ce liquide. Mais la différence n'est pas tant dans la composition élémentaire que dans les propriétés nouvelles que manifeste l'extrait aqueux de kôji.

L'expérience prouve en effet qu'il contient plusieurs diastases. Il y a d'abord de la sucrase transformant le sucre candi en sucre interverti. Il y a aussi une diastase dissolvant l'amidon comme l'amylase, mais en différant, en ce que l'amylase ne donne aux dépens de l'amidon que du maltose et de la dextrine, comme nous l'avons vu, tandis que la diastase du kôji peut agir sur le maltose et le transformer intégralement en glucose, en lui faisant subir une hydratation nouvelle.

La transformation du maltose est tellement rapide qu'on n'a pas le temps de s'apercevoir de la présence de ce produit intermédiaire, quand on hydrate de l'empois d'amidon à l'aide d'une proportion trop forte d'extrait de kôji. Cette action sur le maltose différencie, comme nous l'avons dit, la diastase du kôji de de celle du malt et la rapproche de celle du pancréas, qui, d'après les résultats de Brown et de Héron, confirmant ceux de Musculus et de Mering, commence par former du maltose, qu'elle hydrate ensuite.

Enfin le kôji peut aussi hydrater la dextrine, comme l'amylase. Mais ici l'action est très lente. Elle s'accélère et devient, toutes choses égales d'ailleurs, plus complète, lorsqu'on fait agir l'extrait de kôji sur de la dextrine préparée à l'avance. Mais lorsque l'on opère sur de l'amidon, la dextrine formée dans les premiers moments de la réaction s'hydrate de plus en plus lentement, à cause de l'influence retardatrice du glucose formé en même temps, et dont la proportion va en augmentant de plus en plus. Nous avons appris déjà à connaître cette sorte de frein mis à l'effet d'une diastase par les produits de son action ; nous n'avons pas à y revenir.

Tous ces résultats nous permettent de comprendre que lorsqu'au lieu de soumettre le kôji à un lavage rapide, comme nous l'avons fait dans l'analyse dont les résultats ont été énumérés plus haut, on le met en digestion dans l'eau, la proportion des substances qui vont entrer en solution variera suivant la durée de la digestion, la température où elle est faite, la quantité d'eau mise en présence, etc. Les 5,6 p. 100 d'amidon dont nous avons signalé la présence parmi les matériaux non solubles dans l'eau vont donner de la dextrine, du maltose,

du glucose. A vrai dire, même, l'amidon dont nous avons noté la présence dans le kôji n'est plus à proprement parler de l'amidon, ou du moins n'a pas conservé sa forme, car si on examine au microscope un grain de kôji, on trouve que les cellules extérieures sont plus lâches, plus pénétrées par les fils du mycélium que les cellules centrales, mais que les unes et les autres ont perdu tous leurs granules d'amidon. Il est certain que la diastase produite superficiellement a peu à peu pénétré la masse et a commencé la dissolution des grains d'amidon, sans les avoir pourtant encore transformés en leurs produits ultimes.

C'est de 45 à 60° que la digestion épuise le plus rapidement le kôji. Il peut alors donner plus de 60 p. 100 de son poids de matières dissoutes. Ces matières sont naturellement de la dextrine et du glucose, mais il y a aussi une matière albuminoïde dont la proportion dissoute augmente nettement avec la durée de la digestion.

Ce fait, rapproché de l'augmentation notable de matériaux albuminoïdes solubles à froid quand on passe du riz au kôji, semble indiquer que l'*eurotium* a aussi sécrété une diastase des matières albuminoïdes, analogue à celle que nous avons appris à connaître sous le nom de caséase, c'est-à-dire capable de donner le cachet de peptones solubles à des matériaux azotés, primitivement insolubles. C'est là une hypothèse assez en accord avec les faits que nous avons établis, p. 193 et suivantes, pour que nous ayons le droit de la signaler.

L'action que cet extrait de kôji va, à son tour, exercer sur les matières sucrées ou amylacées qu'on mettra à son contact est facile à prévoir, avec ce que nous savons sur les caractères généraux de l'action des diastases. Avec le sucre on aura, d'une façon assez rapide, une transformation complète en sucre interverti. Avec l'amidon on aura des proportions, variables avec la température et avec le temps de l'action, de maltose, de glucose et de dextrine. Quand on épuise l'action, quand, par exemple, on fait agir à 35° C, pendant trois heures et demie, 96 centimètres cubes d'extrait de kôji sur 4 grammes d'amidon à l'état d'empois, on peut arriver à avoir 87 p. 100 de glucose contre 13 pour 100 de dextrine. Vers 60°, l'action de la diastase s'affaiblit; à 70°, elle est presque nulle. Nous retombons, comme on voit, sur des faits déjà connus à propos des diastases.

Ce kôji sert à faire une bière de riz nommé *saké*, et cela au moyen d'un véritable brassage. On mélange d'abord 21 parties de ce kôji avec 68 parties de riz cuit à la vapeur et 72 parties d'eau. Bien que l'action ait lieu à froid, la masse, primitivement épaisse, devient peu à peu claire et sucrée. On la réchauffe un peu, ensuite, dans un vase où elle entre en fermentation spontanée. Elle arrive, au bout de quelques jours, à renfermer jusqu'à 10 p. 100 d'alcool.

Cette matière fermentée, et renfermant certainement des globules de levure en abondance, sert à son tour de levain pour mettre en fermentation un nouveau mélange de riz étuvé, de kôji et d'eau. Il est facile de prévoir ce qui se passe. La levure présente décompose, au fur et à mesure de sa formation, le sucre fourni d'une façon constante par la diastase du kôji, de sorte que l'épuisement en amidon est poussé beaucoup plus loin que si les sucres ou la dextrine qu'il fournit restaient dans la liqueur. Il ne reste, en effet, dans la boisson terminée, que le huitième ou le dixième de l'amidon originel; le titre alcoolique

est élevé et peut atteindre 13 à 14 p. 100. Il y a peu de dextrine, parce qu'on opère à froid et que la diastase du kôji semble la transformer plus facilement que celle du malt. La liqueur ressemble, par suite, davantage à un vin qu'à de la bière. Nous n'insisterons pas davantage sur la préparation de cette boisson, qui nous ramènerait aux notions que nous avons établies à propos de la fermentation alcoolique. Le seul fait que nous ayons voulu mettre en lumière ici est celui de la formation industrielle de diastases diverses au moyen d'une mucédinée.

PRÉPARATION DE LA CHICHA

A côté de la préparation du *kôji* et du *saké*, vient naturellement se placer celle de la *chicha*, boisson vineuse très alcoolique que les Indiens de l'Amérique du Sud se préparent depuis un temps immémorial par la fermentation de la farine de maïs. Nous avons sur ce sujet des observations de M. V. Marcano, restées malheureusement encore assez incomplètes.

Le maïs est mis à tremper dans l'eau pendant 4 à 6 heures, broyé ensuite sur une pierre, de façon à être réduit en pâte grossière, qu'on fait bouillir et qu'on abandonne ensuite à une fermentation spontanée. L'être qui y intervient est décrit par M. Marcano comme pouvant affecter la forme d'un vibrion, celle d'un globule à un nucléus analogue à un globule de levure, et celle de tubes mycéliens d'où s'échappent des spores. Des faits aussi peu habituels auraient dû être étayés de preuves solides. En l'état, on a le droit de supposer qu'il y a eu des erreurs d'observation ou des mélanges d'espèces.

Ainsi qu'on peut s'y attendre, l'action de ce ferment ou de ces ferments de la matière amylacée est précédée de la sécrétion d'une diastase dissolvant l'amidon. Dans le cas de la chicha, l'amidon est gonflé et dilacéré par l'action de la chaleur; mais l'une, au moins, des espèces qui interviennent dans la fabrication de cette boisson semble pouvoir attaquer la fécule jeune, telle qu'elle se trouve dans les tissus de l'embryon. Il se produit là, sans doute, des phénomènes analogues à ceux que nous a montrés l'aspergillus, lorsque après avoir formé ses tissus aux dépens de certains matériaux assimilables, il peut porter son action comburante sur des matériaux plus difficilement attaquables et qui seraient impropres à fournir à sa croissance, tout en pouvant servir à sa vie.

Sous l'action de ces diastases, l'amidon du maïs donne de la dextrine et un sucre non déterminé qui fermente ensuite. La transformation en alcool et en acide carbonique se fait-elle sous la seule influence des vibrions que nous avons signalés plus haut, ou exige-t-elle l'intervention de la levure de bière? C'est ce qu'on ne voit pas nettement dans le travail de M. Marcano. Les globules nucléés que décrit ce savant pourraient bien être de la levure. Si c'est le vibrion qui intervient seul, il eût été intéressant d'étudier de près un être qui peut élever aussi haut le titre alcoolique des liquides amylacés où il se développe. Ce qui semble indiquer qu'il ne s'agit pas là de fermentation alcoolique ordinaire, c'est que le microbe de la chicha peut faire fermenter, non seulement des

espèces très diverses d'amidon, mais encore la mannite, la dulcite et le sucre de lait. Semé dans du lait additionné de lactose en quantité proportionnelle à la force alcoolique du produit qu'on veut obtenir, il y provoque une fermentation active, tumultueuse, qui dure 8 à 10 jours, et donne une boisson alcoolique, à peine acide, d'un goût et d'une saveur agréables. La levure ordinaire ne produirait pas cet effet. Il y a là un travail intéressant à faire.

LIQUÉFACTION DE L'AMIDON CRU

Jusqu'ici, nous n'avons étudié que les transformations survenant dans l'amidon gélatinisé ou au moins gonflé par la chaleur.

Nous avons maintenant à signaler, à propos de l'amidon cru, quelques résultats nouveaux, dont le caractère incomplet ne saurait être dissimulé, mais qui ont pourtant leur importance par eux-mêmes et par leurs relations possibles avec le phénomène trop peu connu de la fermentation panaire.

Pour bien les interpréter, nous avons à nous rappeler tout d'abord que l'amidon ne saurait être alimentaire par lui-même, mais qu'il est presque toujours, dans les plantes, accompagné de matières albuminoïdes. Dans le grain de blé, par exemple, les granules d'amidon, de tailles très diverses, les uns grands et aplatis en forme de lentilles, les autres petits et globuleux, sont englobés dans une masse de gluten transparente. De plus, le grain d'amidon solide est protégé à l'extérieur par une enveloppe de cellulose véritable, qui souvent reste seule lorsque tout son contenu a été dissous, et dont la résistance aux divers agents rend le granule presque inaltérable, lorsque des phénoménes d'éclatement ou de rupture, survenant autour du hile, n'en ont pas ouvert les couches profondes à la pénétration des agents extérieurs. Enfin, s'il existe, comme nous l'avons supposé plus haut, une diastase dissolvant l'amidon tel quel, il est sûr qu'elle n'est jamais en proportions très considérables, ou du moins qu'on ne l'a jamais vue agir, dans aucun cas, avec la puissance et la rapidité d'action que manifestent ses congénères. Pour toutes ces raisons, nous pouvons prévoir que les grains d'amidon cru ne seront jamais attaqués que de l'extérieur, par des êtres qui ne quitteront pas le voisinage de la matière albuminoïde nutritive, et qui, à moins de circonstances exceptionnellement favorables, n'agiront qu'avec une lenteur à laquelle les faits que nous connaissons ne nous ont pas encore habitués.

Nous avons vu ces caractères se manifester dans la vie des mycéliums de l'aspergillus niger, au contact d'un substratum d'amidon cru ou de cellulose. Nous allons les retrouver en étudiant la corrosion que peuvent produire quelquefois les bactéries.

M. Prillieux a eu l'occasion d'observer, dans diverses variétés de blé provenant des cultures de M. Vilmorin, une altération particulière caractérisée par une coloration purpurine très intense. Cette coloration est particulièrement développée dans les portions du grain les plus riches en matière azotée, c'est-à-dire dans la couche continue, formée d'une seule assise de cellules, qui entoure

l'albumen, dans l'embryon, et, dans ce dernier, surtout sur le plérome, particulièrement riche en plasma.

A l'intérieur des grains roses, ordinairement près de l'extrémité du sillon, on trouve une cavité irrégulière plus ou moins grande, entourée d'une zone transparente, et tapissée d'une couche de bactéries globuleuses dont on peut faire des micrococcus. D'antres cavités semblables peuvent quelquefois exister sur les côtés du grain, au-dessous de la couche à gluten, et communiquent quelquefois avec la première, qui est d'ordinaire la plus grande.

Cette description ne laisse pas douter que ces micrococcus ne soient des aérobies qui pénètrent de l'extérieur, le plus souvent par le sillon, et corrodent peu à peu les tissus. La couche transparente qui entoure les cavités est formée de la portion de l'albumen où ont déjà pénétré leurs diastases. Les grains d'amidon, qui y sont renfermés, sont régulièrement corrodés par l'extérieur, mais seulement au voisinage immédiat de la couche de micrococcus. La diastase dissolvante de l'amidon semble donc s'étendre moins que l'autre. Les plus petits granules disparaissent les premiers, les gros diminuent et sont résorbés à leur tour, laissant vide dans le gluten inaltéré la place qu'ils occupaient, de façon qu'à un certain moment, on trouve la cellule remplie d'une masse glutineuse creusée de vacuoles, dans quelques-unes desquelles on trouve encore, çà et là, un grain colorable en bleu par l'iode.

L'action se continuant, la matière azotée et aussi la cellulose sont attaquées à leur tour. La masse de gluten se réduit à un petit amas irrégulier, amorphe, qui diminue, tandis que la paroi de la cellule se gélifie et se gonfle en réduisant de plus en plus la grandeur de la cavité cellulaire. Puis, au voisinage immédiat de la couche de micrococcus, tout se confond en une masse homogène, dont la disparition graduelle est prouvée par l'agrandissement continu de la caverne dont se creuse le grain.

Nous avons déjà rencontré des phénomènes du même ordre, lorsque nous avons vu une couche d'*aspergillus niger* brûler de l'amidon avec lequel nous l'avons mise en contact. Il n'est pas douteux qu'ici encore, les micrococcus ne se développent aux dépens de la matière albuminoïde, puisqu'on en rencontre surtout là où il y a beaucoup de gluten, et ne détruisent l'amidon que par voie latérale. Mais cela est peu important. L'important est que nous découvrions chez eux une diastase dissolvante de l'amidon cru, et c'est là un fait sur lequel les observations qui précèdent ne laissent planer aucun doute.

FERMENTATION PANAIRE

Ce serait certainement ici le lieu de placer l'étude de la fermentation panaire, si elle nous était mieux connue. Ce n'est pas en effet une fermentation alcoolique, comme on le croit d'ordinaire, en se fondant sur ce que le boulanger peut faire lever sa pâte en y mélangeant de la levure de brasserie ou de la levure pressée. Le rôle de cette levure est inconnu. Ce qu'il y a de sûr, c'est qu'elle ne se développe pas, et qu'il n'y a jamais de traces d'alcool formé ni dans le levain, ni dans le pain. On y trouve en revanche, développés par milliers, des bâtonnets

de diverse nature et de diverse grandeur, auxquels il faut attribuer le dégagement gazeux qui gonfle la pâte. Ces êtres sont, en apparence, les mêmes que ceux qu'on rencontre dans le levain de boulangerie, et qui est formé de pâte abandonnée à elle-même, sans aucune addition de levure. Les germes de ces êtres microscopiques sont sans doute apportés en quantité suffisante par la farine et proviennent, comme ceux qui président à la formation de la chicha, de la surface du grain. Peut-être y en a-t-il qui accidentellement donnent de l'alcool; mais ce que je peux affirmer, c'est que la fermentation panaire n'est pas une fermentation alcoolique produite par la levure de bière, et que je n'ai même pas rencontré de cas où la fermentation s'accompagnât de la formation de l'alcool.

On voit que cette question importante est à reprendre depuis ses origines.

BIBLIOGRAPHIE

Atkinson. — Sur la diastase du kôji. *Moniteur scientifique*, t. XII, p. 7, 1882.

Ahlburg. — *Mittheilungen der deuts. chem. Gesell. für Natur und Wolkerkunde Ost-Asiens*, déc. 1878.

Brown et Héron. — Contributions to the history of starch and its transformations. *Journal of the chem. Society*, sept. 1879.

V. Marcano. — Fermentation de la fécule. *Comptes rendus*, t. XCV, p. 345, 1882.

— Fermentation directe de la fécule. Mécanisme de cette métamorphose. *Comptes rendus*, t. XCV, p. 856, 1882.

E. Prillieux. — Corrosion de grains de blé colorés en rose par les bactéries. *Bull. de la Soc. botanique*, t. XXVI, 1879.

CHAPITRE LII

FERMENTATION DE LA CELLULOSE

A côté du sucre et de l'amidon, dont nous venons d'étudier les divers modes de fermentation, viennent naturellement se placer les substances hydrocarbonées de constitution analogue, transformables en sucre par l'action de divers réactifs, les diverses espèces de cellulose qu'on rencontre dans le monde végétal. Puisque nous nous sommes proposé de rechercher par quels moyens une masse de matière organique fait retour à l'état d'eau et d'acide carbonique, nous avons à nous demander comment fermentent et se détruisent les matériaux dont nous venons de parler. Nous nous poserons ensuite la même question pour les autres substances qu'on leur trouve associées dans tous les tissus vivants, et que nous partagerons en substances acides et en substances neutres. Cette classification, évidemment très artificielle, est cependant, comme nous le verrons, la meilleure à adopter dans l'état d'imperfection de nos connaissances.

Nous allons voir en effet que, dans les divers sujets que nous allons avoir à traiter désormais, nous n'aurons plus la sécurité d'affirmation ni la netteté d'allures que nous avons pu montrer, par exemple, dans le cas de la fermentation alcoolique. Mais nous n'en avons pas moins d'utiles renseignements à recueillir. C'est ce dont nous allons nous assurer en étudiant tout d'abord la fermentation de la cellulose.

Bacillus amylobacter. — Mitscherlich a observé le premier, en 1850, le mécanisme de la dissolution de la cellulose dans les macérations végétales. En abandonnant dans l'eau des tranches de pomme de terre, l'expérience déjà ancienne des fabriques d'amidon montre que le parenchyme se désagrège, que la cellulose disparaît, et qu'on peut, après un temps qui est très court si les conditions extérieures et surtout la température sont favorables, retrouver au fond du vase, isolé et inaltéré, l'amidon primitivement renfermé à l'intérieur des cellules. En filtrant le liquide qui le baigne et en y introduisant de nouvelles tranches de pomme de terre, celles-ci se désagrègent encore plus vite que les premières. Ce liquide apparaît au microscope tout rempli de vibrions, et Mitscherlich se montre tout disposé à voir dans ces vibrions l'agent actif du phénomène.

Ces vibrions ont été étudiés à nouveau, en 1865, par M. Trécul. Au cours de ses recherches sur les laticifères, et pendant qu'il isolait ces organes par la macération des tissus qui les renferment, M. Trécul a constaté chez eux la propriété curieuse de bleuir par l'iode et les a nommés pour cela *amylobacter*. Mais se laissant abuser par des considérations de forme qui, comme nous le savons, n'ont chez ces êtres qu'une importance tout à fait secondaire, il en a fait trois genres: l'*amylobacter* vrai, qui reste cylindrique; le *clostridium*, qui est renflé en fuseau; l'*urocephalum*, qu'un gonflement terminal fait ressembler à un têtard.

M. Van Tieghem a écarté avec raison cette division en trois genres, en montrant qu'il n'y avait là que des formes différentes ou successives d'une même espèce, mobile, mais raide et à mouvements peu flexueux, que l'on peut dès lors appeler, suivant nos conventions, un *bacillus*. La fig. 95 en représente les principaux aspects.



Fig. 95.

Ensemencé dans un liquide convenable, ce bacillus se reproduit activement par allongement et segmentation transversale; mais au moment où se prépare la formation de la spore, on voit apparaître un fait remarquable que nous avons déjà rencontré, et qui se retrouve dans un grand nombre d'autres êtres de l'espèce spirillum, bacillus, ou vibrion. Ce phénomène consiste en une formation transitoire d'amidon amorphe dans le protoplasma de l'article, qui, à cette époque, se colore en bleu ou en violet par l'iode. Avec un peu d'habitude, on reconnaît d'ailleurs directement la présence de l'amidon dans le protoplasma à la réfringence plus grande et toute spéciale qu'il lui communique. Dans l'article encore cylindrique, mais ayant cessé de s'allonger et de se cloisonner, l'amidon apparaît par points isolés, formant autant de petits disques transversaux, et le plus souvent dans l'ordre suivant : deux points aux extrémités, puis un au milieu, puis deux au milieu des intervalles, et ainsi de suite; enfin tous ces disques confluent, et l'article bleuit dans toute sa longueur.

Cette coloration ne prouve pas, il est vrai, d'une façon absolue, qu'il y ait de l'amidon. On en observe une pareille dans les parois des thèques, dans beaucoup d'ascobolus, dans les apothécies des lichens, sans que l'on constate dans ces plantes de matière amylacée proprement dite. Elle paraît dépendre à la fois de la constitution physique et de la structure chimique de la substance où on l'observe; mais elle montre au moins que la constitution du protoplasma change au moment de la formation de la spore et qu'il s'y produit une matière dont on peut dire qu'elle n'est plus la cellulose qui a servi d'aliment, si on ne veut pas dire qu'elle soit de l'amidon. Remarquons d'ailleurs que l'amidon vrai est beaucoup mieux caractérisé par sa structure microscopique que par ses propriétés chimiques et physiques, car s'il y a des substan-

ces colorables en bleu par l'iode qui ne sont pas de l'amidon, il y en a aussi qui sont, au point de vue chimique, de l'amidon, sans se colorer par l'iode.

Quoi qu'il en soit sur ce point, la réserve amylacée de l'amylobacter est transitoire. Bientôt l'amidon disparaît de l'une des extrémités, qui demeure blanche après l'action de l'iode, et cette partie blanche peut quelquefois atteindre la moitié de la longueur de l'article; quand il est renflé en têtard, c'est dans la tête que l'amidon disparaît. Cette résorption de l'amidon précède et annonce la formation de la spore dans cette même région. A mesure que celle-ci se forme, le protoplasma qui occupe le reste de l'article se dissout peu à peu, et, avec lui, l'amidon qui l'imprègne. De sorte que pendant la dernière partie de la période reproductrice, l'article, formé alors d'une mince membrane remplie d'un liquide hyalin et contenant une spore, ne bleuit plus par l'iode, bien que pouvant conserver encore à cette époque la faculté de se mouvoir.

Ces spores résistent quelque temps à l'ébullition dans un liquide neutre. Aussi est-il prudent, pour éviter le mélange facile des *amylobacter* avec les autres ferments qui peuvent se développer dans les mêmes infusions organiques, de les ensemencer dans le liquide bouillant, qu'on laisse ensuite refroidir à la température de l'étuve. On peut ainsi obtenir, sans beaucoup de difficultés, des cultures suffisamment pures pour l'étude.

L'expérience montre que ce bacillus peut se développer aux dépens de matériaux très divers. Il transforme directement le glucose, et, par là, se rapproche très nettement des ferments du sucre étudiés dans les chapitres précédents. Il peut aussi agir sur le sucre candi, qu'il transforme en sécrétant de la sucrase. Il fait aussi fermenter la dextrine, la dextrane, qui forme la plus grande partie de ce que nous venons d'apprendre à connaître sous le nom de gomme de sucrerie, l'arabine, la lichénine, le lactose, la maunite, la glycérine, les citrates, malates et lactates de chaux. S'il n'y a pas eu erreur dans ces expériences, le bacillus amylobacter est un agent très actif de fermentation, mais nous verrons que cette conclusion doit être entourée de quelques réserves.

Destruction de la cellulose. — Si dans une fermentation de glucose en activité, se faisant sous l'action des *amylobacter*, on introduit quelques tranches minces de radis, par exemple, on les voit rester inaltérées tant qu'il y a du sucre, tandis que dans l'eau pure elles se désagrègent et se dissolvent rapidement sous l'action de ces mêmes *amylobacter*, qu'elles ont rencontrés dans le liquide sucré. Mais si on attend que le sucre ait disparu, ou si on vient à un moment quelconque à remplacer par de l'eau pure la dissolution de glucose qui les conserve, ces mêmes tranches disparaissent en quelques heures. Ceci prouve que le sucre est un bien meilleur aliment pour l'amylobacter que la cellulose, et cette expérience est tout à fait analogue à celle où nous avons vu l'*aspergillus niger* formé aux dépens du sucre pouvoir ensuite attaquer et dissoudre l'amidon et désagréger par un véritable phénomène de dissolution les tissus cellulosiques qu'on lui présente.

Il y a pourtant cette différence que l'*aspergillus* doit, pour pouvoir attaquer l'amidon ou la cellulose, être en plein fonctionnement, et qu'il ne peut se produire aux dépens de ces aliments, tandis que l'amylobacter peut se développer,

comme nous l'avons vu, en n'ayant que de la cellulose pour tout aliment hydrocarboné. Le nombre des êtres qui, une fois produits, peuvent attaquer et dissoudre la cellulose paraît très grand; mais jusqu'ici on n'en connaît qu'un capable de trouver dans cette substance un aliment de jeunesse et de développement. C'est donc à juste titre que nous l'avons classé comme ferment de la cellulose.

Quant à la dissolution de ce corps, elle se fait évidemment par le même mécanisme dans tous les cas, et par l'action d'une diastase. Cette diastase n'a pas été isolée, et son action n'a pas été constatée en dehors de celle des cellules que nous avons supposé la produire. Mais son existence ne semble pas douteuse. M. Van Tieghem s'appuie pour la nier sur ce qu'on n'en trouve pas dans un liquide sucré où on a fait vivre l'amylobacter. Il lui paraît que dans ce liquide où la diastase n'a pas à s'user en agissant, elle devra entrer en solution, s'accumuler même et pouvoir être retrouvée; et comme nous avons vu des tranches de radis se conserver plusieurs jours intactes dans des liquides sucrés chargés d'amylobacter, il faut conclure que ceux-ci ne sécrètent pas de diastase dissolvante de la cellulose. La déduction est ingénieuse, mais la conclusion trop absolue. Nous avons vu en effet, au chapitre XIV, que toute cellule vivante ne sécrète pas constamment toutes les diastases qu'elle est en puissance de produire, et qu'elle semble ne les produire qu'au fur et à mesure des besoins, sans doute parce que leur formation est en raison composée de la nature de la cellule et de celle de l'aliment. Dans cette conception, la cellule d'amylobacter pourrait ne sécréter sa diastase de cellulose qu'au moment où elle commencerait à agir sur cette substance, c'est-à-dire, d'après l'expérience elle-même, juste au moment où le sucre a disparu.

Action sur les diverses celluloses. — De même qu'il choisit entre le sucre et la cellulose, l'amylobacter choisit aussi entre celluloses et celluloses, n'agit pas également bien sur toutes et en respecte quelques-unes complètement. « Il n'y a qu'un état, dit M. Van Tieghem, où toutes les cellules de toutes les plantes aient toutes leurs membranes, si épaissies qu'elles puissent être, également dissoutes par l'amylobacter, c'est l'état d'embryon. » Dès que la plante, en se développant, a spécialisé et solidifié ses tissus, on remarque entre eux de profondes différences, qu'on peut apprécier en remarquant l'ordre dans lequel ils se dissolvent dans un liquide riche en amylobacter, et ceux qui résistent à la macération.

« Ce qui résiste, c'est d'abord toute membrane où, par les progrès de l'âge, la cellulose s'est transformée ou incrustée, cutifiée (cuticule), ou subérifiée (liège, périderme, endoderme), ou lignifiée (fibres ou vaisseaux du bois, cellules scléreuses), ou minéralisée (cellules à membrane siliceuse ou calcaire). Cependant quand elle est gélifiée (*ascococcus*, *nostoc*) la matière gélatineuse peut être dissoute et décomposée par l'amylobacter. Ce qui résiste encore, ce sont plusieurs tissus où la cellulose s'est pourtant conservée pure, comme les fibres du liber (on extrait les fibres textiles par le rouissage, c'est-à-dire par l'action en grand des amylobacter), comme les laticifères (on les sépare par la macération, qui est encore l'œuvre des amylobacter), comme la moelle des tiges à partir d'un certain âge, etc.

« Ce qui est dissous, au contraire, dans une plante phanérogame aérienne, outre l'embryon, l'albumen et les jeunes extrémités des tiges et des racines qui disparaissent en entier, c'est le parenchyme séveux de l'écorce, de la moelle jeune, des feuilles, des fleurs et des fruits; ce sont les divers éléments du bois mou, du liber mou et du cambium; c'est le parenchyme de réserve des tubercules, rhizomes et bulbes, etc. Mais il n'en est plus de même dans les phanérogames aquatiques submergées. Ici la cellulose de tous les éléments de la tige et des feuilles résiste aux amylobacter, et c'est là, pour cette sorte de plantes, une nécessité d'existence. Parmi les cryptogames, il en est de même des characées et des algues, et l'amylobacter, qui est une algue, en donne un frappant exemple. La cellulose des champignons demeure aussi le plus souvent inaltérée. Cependant elle est dissoute dans les tissus de réserve des sclérotes. Celle des mousses, des sphaignes, des hépatiques et des lycopodes, celle des feuilles de fougères résiste, tandis que le parenchyme du rhizome des fougères et de la tige des prêles est dissous. »

Produits de la fermentation. — Le bacillus amylobacter est un anaérobie. L'air nuit à son développement; on le montre en exposant en cellule, dans une goutte d'eau, deux tranches de tissu (de radis, par exemple), l'une à l'air, l'autre sous une lamelle. Si l'on abandonne à elles-mêmes ces deux tranches, la première ne prend pas d'*amylobacter* et conserve sa structure; la seconde en acquiert généralement et se putréfie rapidement. Si l'on sème des *amylobacter* jeunes sur les deux tranches, ils ne se développent pas dans la première, qui demeure saine; ils pullulent bientôt dans la seconde, qui se détruit promptement.

Ce bacillus préside donc à une fermentation avec dégagement gazeux. Les produits en sont de l'acide carbonique et de l'hydrogène qui se dégagent, et de l'acide butyrique qui reste et finit par gêner le bacillus. Aussi est-il bon d'ajouter dès l'origine du carbonate de chaux, qui sature au fur et à mesure l'acide formé.

Cette formation d'acide butyrique, jointe à une certaine analogie de formes et de propriétés, a conduit à identifier ce bacillus avec le vibrion butyrique de M. Pasteur. Cette opinion semble difficilement acceptable. Les deux êtres sont, il est vrai, tous deux anaérobies, mais le vrai vibrion butyrique semble l'être plus que l'autre, et ne se développerait pas dans une cellule de verre couverte d'une lamelle, sous le microscope, comme dans l'expérience que nous avons citée plus haut. Il lui faut des liquides à peu près complètement débarrassés d'oxygène. Il est, en outre, semble-t-il, plus mobile et plus flexueux dans ses mouvements que le bacillus amylobacter. Enfin la production d'acide butyrique par les deux êtres n'est pas un argument, car nous connaissons déjà un grand nombre de microbes, très différents certainement les uns des autres, qui produisent de l'acide butyrique, et voir dans tous le vibrion butyrique de M. Pasteur, c'est commettre la même erreur que si l'on appelait levure de bière tous les ferments si divers qui donnent de l'alcool. Rappelons ici une fois de plus que l'alcool, l'acide butyrique sont des produits résiduels communs à un grand nombre de fermentations, qu'ils sont pour les anaérobies quelque chose d'ana-

logue à ce qu'est l'acide carbonique pour les aérobies, le point terminal des réactions de la vie physiologique de l'être.

Dans l'état actuel de nos connaissances, il est prudent de laisser au vibrion butyrique de M. Pasteur son individualité, telle que nous l'avons définie. Rien ne nous autorise encore à lui attribuer d'autres propriétés que celles sur lesquelles est basée sa définition. Il se peut que l'avenir nous apprenne à le fondre avec une autre espèce, mais ce ne sera qu'au prix d'un examen comparatif minutieux pour lequel la science est bien déjà mûre, mais qu'elle n'a encore abordé sérieusement sur aucun point.

Le bacillus amylobacter ne s'attaque, dans la cellule vivante, qu'à son enveloppe extérieure. Il en respecte la matière azotée, la matière grasse, il en laisse le corps inaltéré dans sa forme et dans sa structure. Il la dénude, voilà tout, lorsque la paroi en est alimentaire pour lui. De ce mode d'intervention découle un rôle important pour le bacillus amylobacter dans plusieurs phénomènes naturels, dont deux surtout méritent de nous arrêter un instant.

Digestibilité de la cellulose. — Nous avons vu, p. 136 de ce livre, que la cellulose ou plutôt que certaines celluloses sont nettement digestibles pour les animaux supérieurs. Nous avons dit aussi qu'on ne connaissait pas de suc digestif de la cellulose produit par l'organisme. Un résultat négatif, il est vrai, ne prouve rien. Remarquons pourtant que les recherches ont surtout porté sur des herbivores, où la diastase de la cellulose devrait être abondante. Lors même qu'on admettrait, en se rapportant aux phénomènes que nous avons rappelés plus haut pour l'aspergillus, que l'organisme n'en produit pas d'ordinaire, mais seulement au fur et à mesure des besoins, et que la sécrétion est fonction du mode d'alimentation, il est clair que le lapin, qui, d'après M. Schmulevitsch, digère 90 p. 100 de la cellulose ingérée quand on le nourrit avec des feuilles de rave, devrait présenter un suc normal, digestif de la cellulose. Pourtant M. Schmulevitsch n'en a pas trouvé.

Quel est donc l'agent de la digestion cellulosique? En étudiant de près les grains entiers qu'on rencontre dans le jabot des oiseaux ou la panse des ruminants, on en trouve toujours dont le contenu est tellement liquéfié qu'il en jaillit sous une douce pression, comme une goutte laiteuse. Dans celle-ci, on trouve au microscope des matières amylacées intactes, ayant conservé la forme des cellules qu'elles remplissaient, mais débarrassées de toute enveloppe et nageant dans un liquide qui présente par milliers des êtres analogues aux amylobacter. Nul doute que ces êtres ne jouent un rôle actif dans le phénomène observé. Ils transforment la cellulose en dextrine et en glucose, qu'on retrouve dans les liquides de la panse; ils produisent de l'acide carbonique et de l'hydrogène qui la distendent, de l'acide butyrique qui en rend quelquefois le contenu faiblement acide, et qu'on peut toujours y retrouver à l'aide de la distillation. On comprend facilement aussi le concours que ces agents de la liquéfaction de l'intérieur du grain prêtent à la rumination chez les herbivores, à l'action du gésier chez les oiseaux. Isolés par le broyage de leurs parois dissoutes ou corrodées, les globules d'amidon se présentent à l'action du suc pancréatique et se dissolvent sous son influence. La masse de gluten qui les

englobe se liquéfie sous l'action du suc gastrique et du suc pancréatique. Quant à la digestion de la cellulose commencée par les amylobacter dans la panse ou le gésier, elle se continue sous leur action, non pas dans l'estomac, dont l'acidité gêne les microbes, mais dans toute la longueur de l'intestin. Elle est du reste quelquefois très loin d'être complète. On rencontre quelquefois, jusqu'à la partie inférieure de l'intestin des oiseaux, des cellules reconnaissables à leur aspect, à la coloration bleue qu'elles prennent sous l'influence de l'acide sulfurique et de l'iode, et qui sont en apparence saines et entières. Quelques-unes se sont vidées de leur amidon, atteint au travers des parois de la cellule par endosmose des sucs digestifs normaux; d'autres renferment encore, intact en apparence, leur contenu glutineux et amylacé. On voit, à première vue, qu'il y a, dans la digestion de ces cellules, des hasards qui ne se rencontrent pas au même degré ailleurs, et cette idée de hasard est en rapport avec le caractère contingent et variable de la dissolution de la cellulose par des agents venus de l'extérieur, qui ne sont pas toujours présents, ou dont le développement peut être gêné ou facilité suivant les cas.

La digestion de la cellulose par l'homme s'accompagne de phénomènes tout pareils; mais, pour des raisons faciles à saisir, celui-ci n'a pas à sa disposition une gamme de celluloses alimentaires aussi étendue que les herbivores et ne peut se satisfaire, dans les conditions ordinaires, que des plus tendres, qui sont aussi celles, comme nous l'avons vu, que l'amylobacter consomme le plus facilement. Cependant, il peut arriver, comme l'ont prouvé tant d'exemples, à en consommer de beaucoup plus dures et à faire ressembler son tube digestif à ces flacons remplis d'un liquide riche en amylobacter, dans lesquels la digestion de la cellulose devient de plus en plus prompte et facile.

Macération et fossilisation végétales. — Lorsque du bois ou des organes végétaux sont abandonnés sous l'eau, et de préférence dans les marais ou marécages qui contiennent de la matière organique, ils éprouvent, comme on sait, une série de transformations dont le mécanisme n'est pas encore bien connu, mais qui aboutissent toutes, en dernière analyse, à rendre le carbone prédominant dans les tissus, et surtout à en éliminer à peu près complètement l'oxygène.

Il n'y a qu'une seule action possible dans ces conditions, et dont la puissance soit de niveau avec la grandeur du phénomène, c'est celle des ferments anaérobies, dont la vie revient en somme à éliminer, sous forme d'acide carbonique, l'oxygène de la substance fermentescible, et à laisser comme résidu un corps plus riche en carbone que la substance originelle. On n'en connaît pas, il est vrai, qui aboutissent, dans ce procès de destruction, à du charbon aussi pur que l'est, par exemple, celui de la houille; mais on en sait qui amènent le bois à l'état de tourbe, en dégageant de l'hydrogène, de l'acide carbonique, et même des hydrogènes carbonés. M. Popoff, surtout, a observé à ce sujet des faits intéressants que nous aurons occasion de retrouver quand nous parlerons de la putréfaction végétale. Il est fâcheux que leur étude n'ait pas été faite d'assez près pour que nous puissions leur donner place dans ce chapitre, et qu'on se soit borné à constater en gros la formation de ces dégagements gazeux sans chercher à

bien caractériser les êtres qui les produisent; mais l'existence de ces ferments anaérobies de la cellulose est certaine, et cela nous suffit pour le moment.

On a donc le droit de se représenter un végétal ou un fragment de végétal abandonné sous l'eau désaérée comme livré à une grande quantité de ferments anaérobies de diverses natures, dont les amylobacter de la cellulose font nécessairement partie. Ils dissolvent d'abord et détruisent ensuite les parois des cellules. Comme ils n'attaquent point les matières azotées ou amylacées de l'intérieur, il les abandonnent à d'autres êtres anaérobies qui sont les ferments de ces substances. L'oxygène contenu dans le végétal disparaît à l'état d'acide carbonique, l'hydrogène et une autre portion de carbone fournissent de l'hydrogène protocarboné, il ne reste bientôt comme résidu qu'une masse où le carbone est devenu prédominant. Cette masse, si elle a conservé sa forme, a dû devenir poreuse, puisqu'il y a eu une portion de sa substance détruite : c'est alors la tourbe. D'autres fois, elle se sera imprégnée de silice ou de carbonate de chaux, et présentera même des cavités tapissées de cristaux de quartz, comme de vraies géodes. D'autres fois, une compression l'aura aplatie en respectant ses caractères, d'autres fois, la compression aura porté sur la masse broyée et devenue homogène en vertu de sa friabilité. Tous ces cas si divers se retrouvent dans les terrains houillers.

Si ce mode de production de la tourbe et de la houille n'est pas une vue de l'esprit, on devra retrouver dans ces substances la trace des actions qui leur ont donné naissance, c'est-à-dire les dépouilles des ferments, qui sont précisément formés, comme nous l'avons dit, d'une cellulose inattaquable dans le milieu où ils se développent, ou bien leurs spores, que tout nous montre être plus résistantes à l'action du temps et des réactifs que les filaments eux-mêmes.

C'est précisément à ce résultat que M. Van Tieghem est arrivé en étudiant au microscope les belles préparations, en forme de lames transparentes, que M. B. Renault a su tailler dans les silex houillers de Saint-Étienne. On y voit des filaments grêles divisés en articles, des bâtonnets renflés, contenant souvent chacun une spore vers l'extrémité, et d'innombrables spores libres, dispersées en flocons nuageux au milieu de la silice homogène qui comble les lacunes, ou accolées côte à côte contre la cuticule et contre les vaisseaux.

Ces spores ne sont sans doute pas toutes des spores d'amylobacter. Il doit y avoir celles des êtres qui, le cas échéant, se sont attaqués au contenu azoté et l'ont à peu près fait disparaître, celles aussi qui ont liquéfié l'amidon ; mais il y a sûrement des cellules d'amylobacter.

Ce qui le prouve, c'est que lorsqu'on abandonne à l'action de ces microbes des parties de nos espèces végétales actuelles identiques à celles qu'on rencontre dans la houille; le mode de destruction qu'elles subissent et les portions qui en sont respectées sont les mêmes que dans la houille.

Ainsi, avec de jeunes racines d'if ou de cyprès, le *bacillus amylobacter* attaque la plupart des tissus et dissout complètement les membranes cellulaires. Dans l'écorce, tout le parenchyme ordinaire, puis l'assise à cadres épaissis, puis enfin l'endoderme disparaissent peu à peu, ne laissant subsister à la périphérie que les sommets cutinisés des cellules épidermiques, dont la réunion forme la cuticule. Dans le cylindre central, l'assise rhizogène, les faisceaux libériens et le

tissu conjonctif sont progressivement détruits, ne laissant subsister au centre que la bande des vaisseaux sculptés. De toute la racine, il ne reste donc en définitive que la cuticule et les vaisseaux. Or, dans les très nombreuses radicelles des préparations de M. Renault qui se rappochent des radicelles d'ifs et de cyprès par leurs caractères anatomiques, et notamment par les cadres épaissis qui renferment les cellules de l'avant-dernière assise corticale, on ne trouve comme résidu de fossilisation que la cuticule et les vaisseaux. On pourrait tirer des arguments tout pareils de l'étude des feuilles.

Comme contre-partie, les graines silicifiées de conifères des mêmes préparations ne présentent aucune trace de la présence de l'amylobacter, et M. Van Tieghem s'est assuré, en effet, qu'exposées à l'action de ces microbes, ces graines restaient inaltérées, protégées qu'elles sont par leur tégument, sur lequel l'amylobacter n'a aucune action.

Notons enfin que les feuilles des plantes aquatiques se sont en moyenne mieux conservées dans les dépôts sédimentaires que celles des végétaux aériens, ce qui est d'accord avec les faits que nous avons eu l'occasion d'exposer.

Nous avons donc le droit de voir l'action des ferments dans la formation des puissantes couches de houille que la terre renferme, et cette conclusion-là a évidemment une très grande importance.

BIBLIOGRAPHIE

MITSCHERLICH. — *Monatsberichte der Berliner akademic*, 1850.

TRÉCUL. — *Comptes rendus*, t. LXI, 1865, p. 156 et 436; t. LXV, 1867, p. 513.

VAN TIEGHEM. — Sur le bacillus amylobacter et son rôle dans la putréfaction des tissus végétaux. *Bull. de la Soc. bot. de France*, t. XXIV, 1877, p. 128.

— Sur la fermentation de la cellulose. *Comptes rendus*, t. LXXXVIII, 1879, p. 205, et *Bull. de la Soc. bot. de France*, t. XXVI, 1879, p. 25.

— Identité du bacillus amylobacter et du vibrion butyrique de M. Pasteur. *Comptes rendus*, t. LXXXIX, 1879, p. 25.

— Sur la fermentation butyrique à l'époque de la houille. *Comptes rendus*, t. LXXXIX, 1879, p. 1102.

— Remarques sur l'état où se trouvent les graines silicifiées dans le terrain houiller de Saint-Étienne. *Bull. de la Soc. bot. de France*, t. XXVIII, 1881, p. 243.

PRAZMOWSKI. — Zur Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. *Bot. Zeitung*, n° 26, 27 juin 1879.

POPOFF. — Uber Sumpfgas Gährung. *Archiv. fur gesamm. Physiol.*, t. X, p. 113, 1875.

DUCLAUX. — Sur la digestion des matières grasses et cellulosiques. *Comptes rendus*, t. XCIV, 1882, p. 976.

CHAPITRE LIII

FERMENTATION DES ACIDES ORGANIQUES

Nous avons vu assez fréquemment apparaître les acides gras parmi les produits de fermentations diverses pour pouvoir admettre que ces acides ne sont guère fermentescibles par eux-mêmes, et nous avons même donné la raison de ce fait. Il ne s'agit donc, dans ce chapitre, que d'examiner les fermentations que peuvent subir les acides fixes. Nous commencerons par celles du tartrate de chaux.

FERMENTATIONS DU TARTRATE DE CHAUX

Fermentation propionique et acétique. — Dans un matras tel que celui que représente la fig. 96 et dont nous nous sommes souvent servi, on introduit :



Fig. 96.

Tartrate neutre de chaux, cristallisé et pur	100gr	
Phosphate d'ammoniaque	1	
— de magnésie	1	
— de potasse	0	,5
Sulfate d'ammoniaque	0	,5

et on remplit la fiole, dont la capacité est de 2lit,5 environ, d'eau distillée pure, qu'on fait bouillir de façon à chasser tout l'air en solution. Nous avons déjà fait cette opération à propos de la fermentation butyrique et nous n'insistons pas.

Quand la fiole est froide, on y fait arriver quelques gouttes d'une fermentation de tartrate de chaux déjà en activité, puis on porte le tout à l'étuve. On voit, les jours suivants, le liquide se troubler d'abord, puis redevenir et rester limpide, au point qu'on peut lire de l'écriture au travers de l'épaisseur de la fiole. En même temps commence au voisinage du dépôt solide de tartrate de chaux un travail particulier. Il se recouvre d'une couche d'un gris noirâtre, gonflée, d'aspect organique et gélatiniforme. En certains points se forment d'assez grosses bulles qui se dégagent si on agite un peu, en emportant quelques parcelles solides qui retombent vite sans troubler la limpidité du liquide. Dans les commencements, ce liquide redissout sur leur passage les bulles qui montent, parce qu'il n'est pas saturé, et ce n'est qu'au bout de quelques jours qu'il se forme, à l'extrémité de la courbure de la fiole, un dépôt permanent de gaz. Puis ce gaz s'accumule, se dégage, et on reconnaît que c'est de l'acide carbonique pur, fait que la dissolution complète qu'il éprouvait à l'origine pouvait permettre de prévoir.

Ce gaz acide carbonique est en très petite quantité avec les proportions de liquide et de tartrate que nous avons employées. En augmentant le volume de la fiole ou en diminuant la quantité de tartrate, on pourrait supprimer tout dégagement, conserver tout le gaz en solution, sceller même la fiole et y voir s'accomplir silencieusement, à l'abri de l'air, sans dégagement gazeux apparent, sans aucun trouble dans la limpidité du liquide, la multiplication indéfinie d'un ferment et la destruction d'une quantité théoriquement quelconque de tartrate de chaux.

Si on va chercher en effet, à un moment quelconque, une prise d'essai dans la couche organique grise dont nous parlions tout à l'heure, on la voit formée de longs filaments, très grêles, fig. 97, n'ayant guère environ que 1µ de diamètre, mais



Fig. 97.

dont la longueur, variable, peut dépasser 20µ. Une foule de ces longs vibrions rampent lentement avec un mouvement flexueux, et en montrant jusqu'à trois, quatre et cinq flexions. Ceux-là se rencontrent de préférence au voi-

sinage des portions de tartrate non encore dissoutes. Là où la couche de tartrate a disparu, on trouve de préférence, reposant directement sur le verre de la fiole, des filaments identiques aux précédents, mais immobiles et un peu ponctués, comme formés d'une série de granulations un peu confuses. Tous ces vibrions, mobiles et immobiles, jeunes et vieux, sont enchevêtrés en amas. Il y a aussi des vibrions de même diamètre, plus courts et plus agiles que ceux qui sont en amas, parce qu'ils sont moins longs et plus libres de leurs mouvements, mais on ne les rencontre aussi qu'au voisinage immédiat de la couche de tartrate.

La limpidité du liquide et les différents aspects des vibrions que nous venons de signaler ont une même cause; c'est au voisinage du dépôt que toute l'action est concentrée. Le tartrate de chaux, étant à peu près insoluble dans l'eau, fait absolument défaut à l'intérieur du liquide. Le filament doit donc vivre au contact de son aliment carboné. La multiplication qu'il y subit produit ces enchevêtrements dont nous parlions tout à l'heure, qui gênent le mouvement des vibrions et les empêchent d'aller chercher de la nourriture ailleurs, lorsqu'ils ont fait disparaître celle qui était à leur contact immédiat; de là l'aspect granuleux et épuisé de ceux qu'on a recueillis sur le verre de la fiole elle-même.

Produits de la fermentation. — Quand tout dégagement gazeux a cessé et que le tartrate de chaux blanc a disparu, on trouve au fond du vase un dépôt de carbonate de chaux souvent cristallin, recouvert de la couche grise formée par les vibrions. L'odeur de ce dépôt est un peu putride. La réaction qui s'est produite est donc réductrice, et c'est sans doute à cela qu'est due la coloration grisâtre du dépôt. Les substances employées, si pures qu'elles soient, contiennent toujours des traces de fer qui se change en sulfure, et qui colore alors les matières minérales et organiques existant au fond du vase.

Le carbonate de chaux déposé et celui qui reste en solution dans le liquide chargé d'acide carbonique retiennent exactement la moitié de la chaux du tartrate employé. L'autre se trouve en dissolution dans le liquide, sous forme de sels organiques solubles, qui ont paru à M. Pasteur être un mélange d'un équivalent de propionate de chaux et de deux équivalents d'acétate.

L'équation suivante rend compte de la réaction.

$$3(2CaO,C^8H^4O^{10}) = CaO,C^6H^5O^3 + 2(CaO,C^4H^3O^3) + 3CaO,CO^2 + 7CO^2 + HO.$$

Elle montre que dans la fermentation de 100 grammes de tartrate neutre de chaux, il doit se dégager 19^{gr},7 d'acide carbonique, c'est-à-dire exactement ce que M. Pasteur a trouvé par l'expérience. On peut donc l'accepter comme représentant le gros du phénomène.

Il y a pourtant, à propos de la véritable nature de l'acide qui accompagne l'acide acétique, une indécision qui se rattache à une question historique que nous devons d'abord vider.

Il y a longtemps qu'on sait que le tartrate de chaux fermente, lorsqu'il est abandonné à lui-même en présence de matières organiques. Nöllner, qui, le premier, en 1841, a étudié les produits de cette fermentation, y a trouvé un acide analogue à l'acide acétique, en différant pourtant par quelques caractères,

et qu'il a nommé pseudo-acétique. Berzélius fit ensuite de cet acide un mélange d'acide butyrique et d'acide acétique. En 1847, Nicklès, en étudiant cet acide de la fermentation du tartre, crut y voir, non un mélange d'acide butyrique et d'acide acétique comme Berzélius, mais une combinaison de ces deux acides à équivalents égaux. Il attribuait cette combinaison à ce que les acides se produisaient en même temps et s'unissaient ensemble, et il crut la réaliser artificiellement en versant dans de l'acide sulfurique étendu un mélange à équivalents égaux de butyrate et d'acétate de chaux. Le sel de chaux qu'il obtenait par saturation de la liqueur acide était différent de l'acétate de chaux, différent aussi du butyrate de chaux; il paraissait formé d'un nouvel acide, que Nicklès nomma *acide métacétique.*

Cette même année, Dumas, Malaguti et Leblanc, en étudiant de nouveau l'acide de fermentation du tartre, le caractérisèrent comme de l'acide propionique. Ce corps a la même composition que l'acide métacétique de Nicklès, mais d'après Nicklès ne lui est pas identique.

Enfin, en 1855, en reprenant à nouveau cette question controversée, Limpricht et Uslar considérèrent l'acide formé, comme l'avait fait Berzélius, comme un mélange d'acide butyrique et d'acide acétique.

Toute cette histoire confuse de la fermentation du tartre s'éclaircit si on tient compte de deux faits : le premier est que l'acide métacétique de Nicklès n'est pas distinct de l'acide propionique ; le second est qu'il peut y avoir et qu'il y a divers modes de fermentation du tartre, que, par suite, tous les observateurs dont nous avons rappelé les travaux peuvent avoir raison, et que l'obscurité vient de ce qu'on veut essayer de les mettre d'accord.

Sur la non-existence de l'acide métacétique, nous avons les affirmations motivées de M. A. Fitz qui, ayant essayé de répéter, avec des produits bien purs, les expériences de synthèse de M. Nicklès, n'a obtenu aucun résultat. Il attribue l'erreur de ce savant à la présence, dans l'acide butyrique employé, d'un peu d'acide propionique, dont le sel de chaux ressemble, en effet, beaucoup à celui que Nicklès attribue à l'acide métacétique et a naturellement la même composition. Je puis ajouter à ces raisons de M. A. Fitz que j'ai eu entre les mains de l'acide métacétique de M. Nicklès lui-même, auquel j'ai longtemps identifié tous les acides volatils que je rencontrais dans mes travaux, et qui suivaient, à la distillation fractionnée, la même loi que lui. Mais j'ai eu depuis de l'acide propionique pur, provenant du cyanure d'éthyle, et je n'ai trouvé, en le soumettant au procédé délicat de la distillation, aucune différence entre lui et l'acide métacétique de Nicklès, de sorte qu'on a le droit, je crois, de rayer ce dernier de la science.

Restent donc seulement trois affirmations diverses relatives à la nature de l'acide produit dans la fermentation du tartrate de chaux. Ce peut être de l'acide acétique, de l'acide propionique ou de l'acide butyrique, ou enfin un mélange de deux ou même de trois de ces corps. Ces trois affirmations peuvent être exactes ; tout dépend de la nature du ferment et de celle de la fermentation.

L'acide de Limpricht et Uslar se partageait si facilement, à la distillation fractionnée, en acide butyrique et acide acétique, qu'il n'y a aucun doute à avoir sur la présence réelle du premier de ces corps.

La formation d'acide propionique résulte du travail de MM. Dumas, Malaguti et Leblanc, et de celui de M. Pasteur. Ce dernier nous a en outre appris à connaître le microbe qui la produit.

Fermentation acétique. — Enfin, au sujet de la formation d'acide acétique à peu près pur, comme celui qu'a certainement rencontré Nöllner, nous avons les résultats d'une expérience de M. A. Fitz, faite en ensemençant avec de la bouse de vache un liquide renfermant du tartrate de chaux en suspension. Avec 100 grammes d'acide tartrique, M. A. Fitz a obtenu, outre de petites quantités d'alcool ordinaire, d'acide succinique et d'acide butyrique, provenant sans doute d'actions secondaires dues à l'impureté de la semence, 45 grammes d'acétate de chaux à peu près pur. L'équation

$$2CaO,C^8H^4O^{10} + HO = CaO,C^4H^3O^3 + CaO,CO^2 + 3CO^2 + 2H$$

indique que 100 grammes d'acide tartrique peuvent donner 52gr,7 d'acétate de chaux. Elle représente donc assez bien le mode de fermentation observé par M. A. Fitz, et il demeure acquis que le tartrate de chaux peut donner uniquement de l'acide acétique.

Nous allons retrouver, à propos du malate de chaux, cette multiplicité de modes de fermentation que nous venons de constater pour le tartrate de chaux.

FERMENTATIONS DU MALATE DE CHAUX

Fermentation succinique et acétique. — Elle se produit sous l'influence de bâtonnets grêles, le plus souvent isolés, quelquefois réunis par couples. Elle est régulière et rapide. Les produits en sont, outre une petite quantité d'alcool qui ne se forme pas toujours, de l'acide acétique pur comme acide volatil, et de l'acide succinique comme acide fixe. Les proportions de ces deux acides sont assez exactement celles qui correspondent à l'équation

$$3(2CaO,C^8H^4O^8) + HO = 2(CaO,C^8H^5O^7) + Cao,C^4H^3O^3 + 3(CaO,CO^2) + CO^2.$$

Il y a donc formation de deux équivalents d'acide succinique contre un d'acide acétique.

Remarquons en passant qu'il y a un autre dédoublement théoriquement possible du malate de chaux dans les mêmes produits, c'est celui que traduit l'équation

$$2(2CaO,C^8H^4O^8) + 2HO = CaO,C^8H^5O^7 + CaO,C^4H^3O^3 + 2CaO,CO^2 + 2CO^2 + 2H,$$

qui correspond à un dédoublement en équivalents égaux d'acide succinique et d'acide acétique; mais l'être qui le produit n'est pas connu.

Fermentation propionique. — L'agent de cette fermentation est un bâtonnet en cylindres courts. Il se forme une trace d'alcool ordinaire et un mélange d'acides volatils dans lequel domine l'acide propionique, uni à de l'acide acétique et à de petites quantités d'acide butyrique. Le mode de décom-

position paraît être celui que traduit l'équation suivante :

$$3(2CaO,C^8H^4O^8) + HO = 2(CaO,C^6H^5O^3) + CaO,C^4H^3O^3 + 3CaO,CO^2 + 5CO^2.$$

En comparant cette équation à celle qui correspond à la fermentation succinique, on voit qu'elle n'en diffère qu'en ce qu'ici l'acide propionique $C^6H^6O^4$ remplace l'acide succinique $C^8H^6O^8$, et qu'on retrouve sous forme d'acide carbonique les quantités de carbone et d'oxygène qui font la différence de la formule des deux acides, car

$$C^8H^6O^8 = C^6H^6O^4 + 2CO^2.$$

On pourrait donc croire que cette fermentation ne diffère de la précédente qu'en ce que l'acide succinique a fermenté à son tour, avec formation d'acide propionique et d'acide carbonique. Cette fermentation est possible, mais ce qui prouve qu'elle ne se produit pas dans le cas que nous étudions, c'est que le succinate de chaux ne peut être mis en fermentation par le bâtonnet qui préside à la fermentation précédente.

Fermentation butyrique. — On prépare depuis longtemps, dans l'industrie, l'acide succinique par le procédé indiqué par M. Dessaignes, la fermentation du malate de chaux en présence du fromage pourri, ou simplement, comme l'a proposé Liebig, de la levure de bière. Ce que nous savons déjà nous prouve que cette levure ne joue aucun rôle dans le phénomène en tant que levure ; elle apporte et nourrit le ferment, ou plutôt les ferments, car cette fermentation n'est pas régulière. Elle donne d'ordinaire un mélange de succinate de chaux et d'acétate de chaux, mais elle s'accompagne souvent de la formation de butyrate de chaux dont la présence ne doit pas surprendre, quand on songe que l'acide butyrique est de l'acide malique moins de l'acide carbonique et de l'hydrogène

$$2C^8H^6O^{10} = C^8H^8O^4 + 8CO^2 + 4H.$$

Formules générales. — Tous les modes divers de fermentation que nous venons de passer en revue doivent être évidemment rapprochés de ceux que nous avons rencontrés à propos du sucre. Ils reviennent encore à des modes variables de dislocation de la molécule originelle, avec élimination d'acide carbonique dans tous les cas, d'hydrogène dans quelques-uns, jusqu'à la mise à nu d'un certain nombre de groupements toujours les mêmes, devant lesquels l'action des ferments semble arrêter son action. Examinées à ce point de vue, les fermentations diverses que peuvent éprouver les acides organiques fixes ont des airs de parenté que les formules que nous avons données laissent encore un peu obscurs, et qui apparaissent plus nettement quand on envisage les formules des acides eux-mêmes, au lieu de celles de leurs sels de chaux, et qu'on les rapproche convenablement les unes des autres. C'est ce que prouvent les lignes suivantes :

Les deux acides malique et tartrique ne diffèrent l'un de l'autre que par deux équivalents d'oxygène. Les réactions qui les transforment en acides gras ou

en acide succinique vont être les mêmes, sauf la présence de ces deux équivalents d'oxygène.

1° Acide acétique

(1) $$C^8H^6O^{10} + 2HO = C^4H^4O^4 + 4CO^2 + 4H,$$

(2) $$C^8H^6O^{12} = C^4H^4O^4 + 4CO^2 + 2H.$$

2° Acide propionique

(3) $$2(C^8H^6O^{10} + 2HO) = C^6H^6O^4 + 10CO^2 + 10H,$$

(4) $$2(C^8H^6O^{12}) = C^6H^6O^4 + 10CO^2 + 6H.$$

3° Acide butyrique

(5) $$2(C^8H^6O^{10} + 2HO) = C^8H^8O^4 + 4HO + 8CO^2 + 4H,$$

(6) $$2(C^8H^6O^{12}) = C^8H^8O^4 + 4HO + 8CO^2.$$

On trouverait de même :

4° Acide valérianique

(7) $$3(C^8H^6O^{10} + 2HO) = C^{10}H^{10}O^4 + 14CO^2 + 4HO + 10H,$$

(8) $$3C^8H^8O^{12} = C^{10}H^{10}O^4 + 14CO^2 + 4HO + 4H.$$

Enfin, s'il s'agit de la fermentation succinique, nous trouvons de même :

5° Acide succinique

(9) $$2(C^8H^6O^{10} + 2HO) = C^8H^6O^8 + 8CO^2 + 10H,$$

(10) $$2(C^8H^6O^{12}) = C^8H^6O^8 + 8CO^2 + 6H.$$

On voit que l'acide malique, supposé additionné de deux équivalents d'eau, se décompose comme l'acide tartrique, en donnant deux équivalents d'hydrogène de plus par chaque équivalent d'acide entré en action.

Toutes ces transformations peuvent d'un autre côté être rattachées aux fermentations correspondantes des sucres, par une simple comparaison de formules. L'acide malique renferme en effet théoriquement les éléments du sucre, unis à de l'acide carbonique

$$2C^8H^6O^{10} = C^{12}H^{12}O^{12} + 4CO^2.$$

Dans l'acide tartrique, nous trouvons de même les éléments du sucre, de l'hydrogène et de l'acide carbonique

$$3C^8H^6O^{12} = C^{12}H^{12}O^{12} + 12CO^2 + 6H.$$

Et il résulte de là, théoriquement au moins, que ces deux acides doivent pouvoir donner les mêmes produits que le sucre dans un procès de fermentation, et ajoutent alors leur acide carbonique et éventuellement leur hydrogène aux gaz de même nature qui accompagnent toute intervention des microbes anaérobies sur le sucre.

Toutes les formules que nous venons d'écrire sont théoriques. Quelques-unes même peuvent être pratiquement irréalisables. Ce sont surtout celles qui font intervenir la décomposition de l'eau dans la réaction qu'elles traduisent, parce que cela implique une nouvelle dépense d'énergie à ajouter à celle qu'exige la vie

du ferment, dans notre conception de la théorie des fermentations. De plus, il est remarquable qu'on n'ait signalé aucun cas où la fermentation du tartrate ou du malate de chaux donne naissance à un acide simple, et que toutes celles sur lesquelles nous sommes un peu renseignés aboutissent à la formation d'au moins deux acides et correspondent à une destruction moléculaire moins profonde que celle que traduisent les formules qui précèdent.

Examinons, en effet, par exemple, la fermentation dans laquelle nous avons vu se former deux équivalents d'acide propionique et un d'acide acétique aux dépens de l'acide malique. Théoriquement, la transformation peut être écrite en additionnant membre à membre la formule 1 et la formule 3, après avoir multiplié tous les termes de celle-ci par le nombre 2. On trouve ainsi l'équation résultante

$$5C^8H^6O^{10} + 10HO = 2C^6H^6O^6 + C^4H^4O^4 + 24CO^2 + 24H,$$

tandis que la formule réelle de la réaction, telle que nous l'avons donnée sous une autre forme, est

$$3C^8H^6O^{10} = 2C^6H^6O^4 + C^4H^4O^4 + 8CO^2 + 2HO.$$

On voit tout de suite que la seconde donne une plus forte proportion d'acides gras et correspond à une perte moindre d'énergie ; on le voit mieux encore en décomposant la première dans les deux équations suivantes, qui lui sont équivalentes

$$(11) \qquad 3C^8H^6O^{10} = 2C^6H^6O^4 + C^4H^4O^4 + 8CO^2 + 2HO,$$
$$2C^8H^6O^{10} + 12HO = 16CO^2 + 24H.$$

La première est l'équation réelle, la seconde correspond à une combustion complète, à une réaction qui est probablement encore endothermique et est irréalisable par les ferments.

De même celle qui donne, aux dépens de l'acide malique, deux équivalents d'acide succinique et un équivalent d'acide acétique pourrait, si elle s'accomplissait suivant le mécanisme indiqué par les formules 9 et 1, s'écrire sous la forme suivante :

$$5C^8H^6O^{10} + 10HO = 2C^8H^6O^8 + C^4H^4O^4 + 20CO^2 + 24H.$$

Tandis qu'elle se fait réellement en vertu de l'équation

$$(12) \qquad 3C^8H^6O^{10} = 2C^8H^6O^8 + C^4H^4O^4 + 4CO^2 + 2HO,$$

qui, retranchée de l'équation qui précède, laisse comme résidu l'équation

$$2C^8H^6O^{10} + 12HO = 16CO^2 + 24H,$$

équation identique à celle que nous avons obtenue tout à l'heure, ainsi qu'il était facile de le prévoir en remarquant que l'acide succinique est de l'acide propionique plus de l'acide carbonique

$$C^8H^6O^8 = C^6H^6O^4 + 2CO^2.$$

Toutes ces déductions ne sont pas aussi théoriques, ni tous ces rapprochements aussi artificiels qu'on pourrait le croire au premier abord. Nous y trou-

vons d'abord une confirmation expresse de nos vues sur la fermentation, en vertu desquelles tout phénomène de cette nature doit être exothermique et respecter toute molécule complexe dont la destruction complète exigerait l'intervention d'une énergie extérieure. Il n'est pas inutile non plus de remarquer le parallélisme parfait de deux fermentations aboutissant à des types aussi différents que l'acide propionique et l'acide succinique, surtout si on songe que la soustraction de l'équivalent d'acide carbonique, qu'il faut enlever au second pour retrouver le premier, appartient à la catégorie d'actions que les ferments exercent le plus naturellement, d'après tout ce que nous savons de leur histoire. Imaginons, mis en présence de la même quantité de malate de chaux, deux microbes capables de le décomposer, mais dont l'un exige pour son développement et ses besoins vitaux une quantité de chaleur et une perte d'énergie moindres que l'autre; il est clair que le premier pourra présider à la formation d'acide succinique suivant l'équation (12), pendant que l'autre donnera de l'acide propionique suivant l'équation (11). Ce sont là deux acides de types bien différents et que rien ne rapproche en chimie, mais qui pour un ferment paraissent différer uniquement par la dose d'énergie qu'ils possèdent.

Nous pouvons même pousser plus loin notre induction. La formation d'acide succinique et d'acide acétique, aux dépens de l'acide malique, peut se faire en vertu d'une autre équation que l'équation (12). On peut en effet avoir théoriquement l'équation

$$2C^8H^6O^{10} = C^8H^6O^8 + C^4H^4O^4 + 4CO^2 + 2H,$$

qui correspond, ainsi qu'il est facile de le voir, à une perte d'énergie plus grande que l'équation (12), soit à cause de l'acide carbonique qui est ici en plus forte proportion, soit à cause de l'hydrogène qui se dégage à l'état gazeux. Le microbe qui produit l'acide succinique ne semble pas avoir besoin de s'élever jusque-là.

L'étude comparée des divers modes de fermentation de l'acide citrique ou de l'acide mucique, qui ne diffèrent l'un de l'autre que par 2 équivalents d'eau, celle des divers modes de destruction du sucre ou de la mannite, ou encore de l'érythrite, nous conduiraient à des inductions pareilles à celles que nous venons de rencontrer. Si leur caractère théorique nous a obligé de les signaler, leur caractère hypothétique nous empêche de nous y arrêter trop longtemps. On peut les résumer en deux propositions concises.

Le ferment qui préside à la destruction d'un édifice moléculaire ne lui emprunte que la chaleur qui lui est nécessaire, et borne la dislocation à celle qui lui fournit son minimum d'énergie.

Dans cette dislocation, le type chimique ne joue aucun rôle, ni au point de départ, ni au point d'arrivée. La combustion intérieure qui constitue la fermentation, comme la combustion ordinaire, tient compte avant tout du nombre et de la nature des molécules.

Nous allons voir pourtant que si la molécule en voie de destruction peut passer par les types les plus divers, l'arrangement initial de ses atomes n'est pas indifférent, et nous allons retrouver l'intervention du pouvoir rotatoire que nous connaissons déjà, en étudiant la fermentation du tartrate d'ammoniaque.

Fermentation du tartrate d'ammoniaque. — Un liquide nutritif renfermant du tartrate d'ammoniaque comme unique aliment hydrocarboné fermente régulièrement sous l'action d'un microbe analogue au ferment lactique. Il suffit de l'additionner d'eau de levure et de l'ensemencer à 30° environ avec un peu du dépôt d'une autre fermentation en activité. Le liquide se trouble au bout de quelques heures, et le lendemain la fermentation commence.

On voit bientôt se former au fond du vase un dépôt, de poids extrêmement minime par rapport au poids de tartrate employé. Ce dépôt est formé de chapelets de petites granulations ayant à peu près les dimensions du ferment lactique. Ces chapelets s'enchevêtrent, se réunissent en amas, en lambeaux irréguliers, et prennent en vieillissant une consistance glutineuse.

Ces faits une fois constatés, il y avait grand intérêt à rechercher si l'acide racémique éprouverait la même fermentation que l'acide tartrique droit, en d'autres termes, si notre microbe de plus haut transformerait l'acide gauche aussi facilement et de la même façon que l'acide droit. Le racémate de chaux donne en effet une fermentation avec les mêmes caractères et le même dépôt de ferment. Mais en étudiant la marche du phénomène à l'aide du polarimètre, on voit que les choses se passent tout autrement. Après quelques jours de fermentation, le liquide primitivement inactif possède un pouvoir rotatoire à gauche sensible, et ce pouvoir augmente progressivement à mesure que la fermentation se continue, de façon à atteindre un maximum. La fermentation est alors suspendue. Il n'y a plus trace d'acide droit dans la liqueur, qui, évaporée et mêlée à son volume d'alcool, donne immédiatement une abondante cristallisation de tartrate gauche d'ammoniaque.

Cette sorte d'arrêt devant le tartrate gauche est plus brusque et plus net que dans aucun des exemples que nous avons déjà rencontrés, et on pourrait y trouver un moyen de préparation de l'acide gauche pur. Il serait intéressant de voir ce qui reste du pouvoir rotatoire initial dans les produits de la fermentation. C'est un sujet sur lequel nous n'avons encore aucun renseignement précis.

Nous voyons donc ici, une fois de plus, le caractère de dissymétrie moléculaire propre aux matières organiques intervenir dans un phénomène physiologique.

BIBLIOGRAPHIE

Acide tartrique.

Pasteur. — *Études sur la bière,* Paris, 1876, p. 274.
Nöllner. — *Ann. der Chem. und Pharm.*, t. XXXVIII, p. 299.
Nicklès. — *Id.* t. LXI, p. 343.
Dumas, Malaguti et Leblanc, *Comptes rendus*, t. XXV, p. 781.
Limpricht et Von Uslar. — *Ann. der Chem. und Pharm.*, t. XCIV, p. 321.
Pasteur. — *Comptes rendus*, t. XLVI, p. 615.
A. Fitz. — *Berichte der deuts. chem. Gesell.*, XII, p. 475.

Acide malique.

Dessaignes. — *Comptes rendus*, t. XXXI, p. 432, et t. L, p. 79; *Ann. de chim. et de phys.*, 3e sér., t. XXV, p. 253.
Gehling. — *Ann. der Chem. und Pharm.*, t. LXVII, p. 300.
A. Fitz. — *Berichte der deutsch. chem. Gesell.*, XI, p. 1896.

CHAPITRE LIV

MALADIES DES VINS ET DES BIÈRES

Le vin, la bière sont de véritables infusions végétales, contenant en solution des substances fermentescibles diverses, et restent naturellement soumis aux causes de destruction de toutes les infusions. A cause de sa nature acide, de sa richesse en alcool, de sa pauvreté plus grande en matières dissoutes, le vin résiste mieux que la bière; mais il renferme encore, en proportions assez grandes, des matériaux fermentescibles, les uns produits par la fermentation qui lui a donné naissance, tels que l'alcool et la glycérine, les autres préexistant dans le moût, tels les sels à acides organiques fixes, tartrates, malates, ou bien encore la gomme dont on a signalé l'existence dans le vin.

Ce vin est, d'un autre côté, une boisson particulièrement délicate et fragile. Rien de plus fugitif que son arome, son bouquet, sa saveur, rien dont l'existence exige le concours pondéré d'un plus grand nombre d'éléments divers. Que l'un quelconque de ces éléments vienne à être atteint, même en proportions minimes, il s'ensuivra une viciation de goût, souvent peu perceptible à l'origine, mais qui ira en s'accusant peu à peu, parce que la cause qui la produit est d'ordinaire une cause vivante. Nous allons voir, en effet, que M. Pasteur a rattaché à la présence de ferments divers les diverses maladies auxquelles le vin est sujet.

Cette étude trouve naturellement sa place ici, maintenant que nous connaissons quelques-uns des modes de fermentation que peuvent subir les matériaux en dissolution dans le vin. L'état encore imparfait de la science à ce sujet ne nous permettra pas de rattacher sûrement toutes les maladies à l'attaque d'un élément déterminé, mais les notions que nous avons recueillies ne nous en seront pas moins, on le verra, fort utiles. Commençons par les maladies qui accompagnent la disparition ou la transformation de l'alcool du vin.

I. — MYCODERMA VINI

L'alcool, nous le savons, peut être attaqué par deux êtres aérobies très divers d'allure : l'un, le *mycoderma vini*, qui le brûle complétement en le tranformant en eau et en acide carbonique; le second, qui en fait de l'acide acétique par une combustion incomplète.

Le *mycoderma vini* se développe surtout sur les vins jeunes, même sur ceux qui sont très riches en alcool. Il ne vit pas seulement aux dépens de l'alcool, il peut aussi, comme nous l'avons vu, brûler le sucre et les matières extractives, et lorsque ces substances sont abondantes, comme dans les vins jeunes ou les vins vieux qui restent sucrés, le mycoderme peut se développer et vivre, même lorsque le vin renferme de 14 à 15 p. 100 d'alcool. Lorsque le vin se dépouille son alcool le protège mieux. D'après Nessler, avec les vins d'Allemagne, non sucrés, le mycoderme ne se développe que lorsque le titre alcoolique est inférieur à 12 p. 100. L'expérience montre qu'avec nos vins de France il n'y a guère de bouteille qui, mise en vidange, ne se couvre de ces fleurs du vin, et pas de tonneau, même hermétiquement clos, qui n'en porte à la surface, plus ou moins mélangées à du *mycoderma aceti*.

Ce mycoderme vit très certainement là aux dépens de matériaux autres que l'alcool, mais vivrait-il uniquement aux dépens de celui-ci, que sa présence serait encore sans inconvénient dans la plupart des cas, toutes les fois qu'on ne renouvelle pas comme à plaisir l'air à la surface du liquide. Le *mycoderma vini* consomme en effet, pour brûler l'alcool, une grande quantité d'oxygène. Il est facile de calculer que les 80 grammes d'alcool contenus dans un litre de vin à 10 p. 100 d'alcool exigent, pour se transformer en eau et en acide carbonique, plus du double de leur poids d'oxygène, c'est-à-dire plus de 160 grammes ou de 100 litres de ce gaz, c'est-à-dire encore plus que la quantité contenue dans un demi-mètre cube d'air. On comprend dès lors le peu d'inconvénient qu'il y a à la présence du mycoderme dans un tonneau qui est toujours maintenu à peu près plein, et où le volume du liquide est très grand par rapport à celui de l'air qui pénètre par diffusion ou autrement. Remarquons d'ailleurs que le volume d'acide carbonique produit dans la combustion de l'alcool par le mycoderme remplace environ les deux tiers de l'oxygène absorbé, et que l'appel de l'extérieur à l'intérieur doit être moins énergique qu'avec le *mycoderma aceti*, où il y a absorption complète de l'oxygène. Enfin, la disparition complète de un à deux millièmes d'alcool est inappréciable au goût, tandis qu'à cette dose l'acide acétique est déjà sensible.

On peut donc conclure que le *mycoderma vini* est beaucoup moins redoutable que son congénère producteur de vinaigre. On peut même se demander, avec M. Pasteur, si sa présence n'est pas souvent utile dans les tonneaux. Remarquons en effet qu'à raison de sa nature, il consomme et emploie à un usage déterminé, à la combustion de l'alcool, qui est à peu près indifférente lorsqu'elle n'est pas poussée trop loin, tout l'oxygène qui pénètre à la surface du vin dans le tonneau, ou même, comme nous l'avons vu, par filtration au travers des douves. Tout cet oxygène est donc perdu pour les oxydations profondes auxquelles nous avons vu qu'était dû le vieillissement du vin. Le *mycoderma vini* a donc pour effet de le conserver jeune. C'est peut-être pour cela que dans certains pays, le Jura par exemple, on conserve systématiquement la pratique de laisser les tonneaux en vidange : on ne les remplit pas à l'époque des soutirages et on ne les ouille pas ultérieurement, comme en Bourgogne. Dans les tonneaux ouillés, tout l'oxygène qui pénètre est employé à des oxydations; dans un tonneau non ouillé, où le *mycoderma vini* est seul développé, il inter-

vient comme agent prompt de désoxydation de l'air qui pénètre. Or, sur les vins du Jura, c'est presque toujours le *mycoderma vini* qui se développe spontanément.

Il en est autrement sur les vins de Bourgogne, où c'est d'ordinaire le *mycoderma aceti* qui apparaît sur les vins en tonneau. De là peut-être dans ce vignoble la pratique de l'ouillage. Peut-être aussi la présence du bouquet, beaucoup plus développé que dans les vins du Jura, exige-t-elle cette élimination constante d'un mycoderme quelconque qui le détruirait. Peut-être enfin le mycoderme du vin contribue-t-il à faire disparaître sur les vins du Jura un excès d'acidité qu'ils doivent tant à leurs cépages qu'à une maturité moindre à l'époque des vendanges. Il y a encore beaucoup d'inconnu dans cette question des mycodermes; mais on voit pourtant en gros quelle influence ils peuvent avoir sur la bonne ou mauvaise tenue d'un vin, et quel lien étroit ils peuvent avoir avec les pratiques de la vinification en divers pays.

Si peu redoutable que soit la présence du *mycoderma vini* dans les circonstances ordinaires, il finit par rendre le vin très plat, soit parce qu'il en fait disparaître tout l'alcool, soit parce qu'il en brûle d'autres principes. Mais le principal danger est qu'il s'accompagne presque toujours du *mycoderma aceti*, et qu'en brûlant une partie de l'alcool du vin, en le dépouillant d'autres principes, il rend le développement de son congénère plus facile.

II. — MYCODERMA ACETI

Ce mycoderme se développe en effet de préférence sur les vins dépouillés, ceux qui dès l'origine sont des vins fins, ou sur les vins ordinaires qui vieillissent. Bien qu'il préfère en général des liquides moins alcooliques que le mycoderme précédent, il peut encore, d'après Nessler, se développer sur des vins à 13.4 pour 100 d'alcool. Les vins blancs sont plus facilement envahis que les vins rouges, et comme ici il y a absorption pure et simple d'oxygène, sans production d'acide carbonique en quantité sensible, comme la quantité d'oxygène nécessaire à l'action est moins grande que pour le *mycoderma vini*, comme enfin l'acide acétique produit est déjà sensible au goût lorsqu'il dépasse un millième, on comprend que le *mycoderma aceti* soit un ennemi redoutable pour les vins et qu'on ait cherché depuis longtemps à éviter sa présence.

L'une des plus anciennes pratiques employées pour arriver à ce résultat est celle de recouvrir d'une couche d'huile le vin que l'on veut conserver. Toute formation mycodermique est alors impossible. C'est le procédé qu'employaient les anciens; il est encore très fréquement employé en Italie. En Grèce, en Turquie, on emploie une autre méthode aussi très ancienne, celle qui consiste à ajouter au vin environ 200 grammes de térébenthine par hectolitre. La térébenthine peut agir certainement autrement que l'huile. Elle est par elle-même un antiseptique assez puissant. Elle s'oxyde aussi plus facilement. Mais il est possible qu'elle n'agisse que par le voile très mince, souvent irisé, qui s'en répand à la surface du liquide, et qui suffit à empêcher tout développement mycodermique. Dans ce cas, il serait tout à fait inutile d'en employer des propor-

tions aussi fortes, et on pourrait en conserver l'usage en restreignant ou supprimant le mauvais goût que l'addition d'aussi grandes quantités de cette matière communique au vin.

Le mutage des tonneaux, que connaissait et pratiquait Caton, conduit au même résultat, en faisant disparaître l'oxygène, et en laissant dans le vin un principe oxydable qui consomme les premières portions d'oxygène qui pourraient y pénétrer à nouveau. L'opération se fait en brûlant du soufre dans le tonneau vide et en y versant ensuite le vin. La quantité d'acide sulfureux absorbée par le liquide dépend de la quantité de soufre brûlée et du remplissage plus ou moins complet du tonneau. Il y a plus d'acide sulfureux dissous par le vin quand on laisse le tonneau en partie vide. D'après Nessler, lorsqu'on remplit le tonneau, le vin absorbe environ 0,00034 p. 100 de son poids d'acide sulfureux pour chaque gramme de soufre brûlé par hectolitre. Dans un tonneau de 10 hectolitres où on a fait brûler une mèche de 20 grammes, le vin absorbe donc 0,00068 p. 100 de son poids d'acide sulfureux, ou environ 7 milligrammes par litre. Il suffit de 2 milligrammes par litre pour entraver notablement la fermentation alcoolique. La même proportion suffit sans doute aussi pour le *mycoderma aceti;* mais la meilleure protection contre lui est l'atmosphère irrespirable de la partie vide du tonneau. On comprend pourtant que cette protection deviendra peu à peu insuffisante, et la durée de l'immunité conférée par le soufrage ou le mutage ne dure pas en effet très longtemps.

Lorsque malgré tous les efforts un vin s'est acidifié, s'il l'est fortement, le mal est irrémédiable, il faut ouvrir largement la bonde du tonneau et laisser le vin se transformer en vinaigre, en surveillant régulièrement la fermentation, de peur de dépasser le but, comme nous l'avons expliqué quand nous avons parlé de l'acétification.

Lorsque la maladie est encore peu avancée, on peut essayer de saturer, avec de la potasse pure et très concentrée, tout l'acide produit. A cet effet, on détermine par comparaison le titre acide du vin malade et celui d'un vin analogue resté sain, du même vignoble et du même cépage s'il est possible, et on ajoute de la potasse en quantité suffisante pour ramener le vin malade au même titre acide que l'autre. L'expérience montre que l'acidité disparaît au goût et que, lorsque le vin avait un bouquet que le commencement d'acétification subie avait masqué, ce bouquet reparaît souvent et sans altération apparente.

Liebig avait proposé de se servir de tartrate de potasse pour guérir les vins qui commençaient à aigrir. Il pensait que l'acide acétique emprunterait au tartrate une partie de sa potasse, et que l'acide tartrique mis en liberté précipiterait une quantité équivalente de tartrate sous forme de bitartrate de potasse. Mais le tartrate de potasse n'agirait alors que comme source de potasse, et la pratique que nous avons indiquée vaut mieux.

On remplace quelquefois la potasse par la craie, le marbre ou d'autres carbonates de chaux. Avec ces corps, on est moins sûr de son opération, et on risque de remplacer quelques-uns des sels de potasse que renferme normalement le vin par des sels de chaux, dont l'action physiologique n'est pas la même. Leur emploi est donc à rejeter d'une façon absolue.

III. — VINS POUSSÉS

Les vins rouges, comme les vins blancs, sont sujets à une maladie qui apparaît d'ordinaire quand la chaleur des mois de mai, juin, juillet et août a pénétré suffisamment dans les caves ou celliers et en a élevé la température. Lorsque cette maladie est développée dans un tonneau bien clos, il n'est pas rare d'y voir des suintements se produire aux joints des douves ; les fonds même du tonneau peuvent se bomber. Si l'on pratique un fausset, le vin jaillit avec force sous l'influence de la pression intérieure. De là l'expression vulgaire: *il a la pousse*. Versé dans un verre, on aperçoit souvent sur les bords une couronne de très petites bulles. Il est plus ou moins trouble, et si on l'agite doucement, on y voit des ondes soyeuses se déplacer et se mouvoir en divers sens. Exposé à l'air, son trouble augmente, parce que la couleur du vin change, se fonce, et il s'y forme comme une sorte de précipité. La saveur est dès l'origine plus ou moins altérée, elle a pris quelque chose de fade, et cette impression, tempérée à l'origine par l'acide carbonique que le vin renferme en excès, s'accuse davantage à mesure que le vin se dépouille de ce gaz et s'oxyde à l'air libre.

Les ondes soyeuses que nous signalions tout à l'heure sont dues à la présence dans le vin de filaments d'une extrême ténuité, ayant souvent moins de 1µ de diamètre, et de longueurs très variables. On les trouvera représentés dans la fig. 98, mélangés à des globules de levure de vin, de façon à ce qu'il soit facile de se faire une idée des dimensions relatives de ces deux espèces

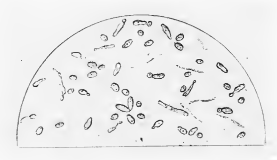


Fig. 98. — *Ferment du vin poussé avec globules de levure du vin.*

d'êtres. Ils ont été dessinés, non à l'état de suspension dans le liquide, mais tels qu'ils sont dans la lie, où il y a souvent beaucoup moins de globules de levure, et qui n'est quelquefois qu'un amas de filaments, souvent très longs, tous enchevêtrés les uns dans les autres, formant ordinairement une masse noirâtre, glutineuse, qui se tient et se met en fils muqueux lorsqu'on la retire à l'aide d'un tube effilé plongeant jusqu'au fond du tonneau ou de la bouteille.

Ce sont là autant de caractères que nous avons rencontrés au chapitre précédent, dans l'agent de la fermentation propionique et acétique du tartrate de chaux. Nous avions là aussi des filaments ténus, allongés, enchevêtrés et glaireux. Ils ne donnaient là que de l'acide carbonique. Tel est aussi le cas dans la

pousse des vins, ainsi que je m'en suis assuré, ils vivaient aux dépens de l'acide tartrique. C'est un fait bien connu, dans les vignobles où sévit *la pousse*, que les tonneaux où la maladie apparaît se *nettoient*, c'est-à-dire perdent les croûtes de tartre adhérentes à leur surface.

Si l'on pousse plus loin l'étude chimique, on voit se confirmer les analogies que nous venons de signaler. M. Balard a constaté le premier la présence dans les vins poussés d'un peu plus d'acides volatils que dans les autres, et il avait pris ces acides volatils pour de l'acide acétique. M. Béchamp et M. Glénard ont fait voir qu'il se produisait en même temps un peu d'acide propionique. M. Nicklès émit l'opinion que cet acide devait être l'acide métacétique. Bref on pourrait trouver, à propos des acides volatils des vins poussés, la même controverse qu'à propos des acides de la fermentation du tartrate de chaux, et ici encore tout le monde peut avoir raison, parce que rien ne dit qu'il n'y ait qu'un seul ferment agissant sur le tartre. Il peut y avoir une foule de modes de décomposition survenant dans ce corps, et une foule de maladies différentes confondues sous ce nom commun de maladies de la pousse.

La nature des acides volatils produits peut seule servir à caractériser la nature des ferments entrés en action et la nature de la maladie. Or, nous venons de voir que la nature de ces acides est variable ou incertaine. Quant à leur quantité, on sait, par les expériences de M. Pasteur, qu'elle augmente dans un même vin à mesure qu'il devient plus malade. Voici, évalués en acide acétique, les poids des acides volatils renfermés dans des vins du Jura authentiques, conservés à l'abri de l'air dans des flacons clos, un mois et quatorze mois après la vendange.

	Acides volatils par litre	
	après 1 mois.	après 14 mois.
Vin n° 1	0gr,30	0gr,46
— 2	0 ,19	0 ,40
— 3	0 ,42	»
— 4	0 ,16	»

Ces nombres prouvent d'abord que des vins très jeunes, n'ayant pas subi d'acétification, peuvent néanmoins renfermer des acides volatils en proportions variables. L'examen microscopique des dépôts de ces quatre vins a montré que le développement du ferment était sensiblement en rapport avec les proportions d'acides trouvées, et s'il restait quelques doutes sur la relation entre la présence de l'acide et le développement du ferment, ils seraient levés par l'augmentation de l'acidité dans ces mêmes vins conservés au laboratoire, dans des flacons bouchés et scellés, où le *mycoderma aceti* n'avait pu agir, mais où le microscope décelait une augmentation notable des filaments de la *pousse*.

De la manière dont les acides ont passé à la distillation, dans les expériences de M. Pasteur, on peut conclure qu'ils étaient surtout formés d'acide acétique, mais de petites quantités d'acides gras supérieurs ont pu très bien passer inaperçues, et pour être mieux renseigné sur les produits de cette fermentation, j'ai recommencé l'étude des acides, par les procédés délicats de la distilla-

tion fractionnée, sur deux échantillons des mêmes vins, les uns malades, les autres conservés sains par le procédé du chauffage que nous allons avoir bientôt à décrire.

Sur deux vins que j'ai pu étudier dans ces conditions, j'ai constaté que la proportion par litre d'acides volatils, évalués en acide acétique dans la colonne I du tableau ci-dessous, avait beaucoup augmenté par suite de la maladie. Ceci, nous le savions déjà.

J'ai vu aussi que l'augmentation dans le chiffre de l'acidité des acides volatils était supérieure à l'augmentation de l'acidité totale des vins dans le même intervalle, évaluée aussi dans la colonne II en acide acétique. Le vin, en gagnant en acides volatils, avait donc perdu une portion de ses acides fixes. Si l'on rapproche ce fait de la disparition du tartre dans les tonneaux où apparaît la maladie de la pousse, on ne doutera pas que l'acide fixe disparu ne soit de l'acide tartrique.

Enfin l'étude des acides volatils m'a montré qu'ils étaient formés d'acide propionique et d'acide acétique dans les proportions indiquées aux colonnes III et IV du tableau.

		I Acides volatils.	II Acidité totale.	III Acide acétique.	IV Acide propionique.
Vin d'Arbois 1871, chauffé en avril 1872, étudié en avril 1873. . . .	Vin sain. . . .	0gr,840	5gr,47	0gr,706	0gr,150
	Vin malade. .	1 ,740	6 ,16	1 ,420	0 ,390
Vin du Puy-de-Dôme 1866, chauffé en 1867, étudié en 1872.	Vin sain. . . .	0 ,630	5 ,11	0 ,610	»
	Vin malade. .	1 ,185	5 ,21	1 ,040	0 ,185

Les deux vins ci-dessus ont été étudiés trop peu de temps après le chauffage qui avait immobilisé l'un des échantillons, pour que les différences constatées fussent bien sensibles. On voit pourtant que la maladie est caractérisée par la formation de l'acide que j'ai appelé métacétique dans mon mémoire, n'ayant pu alors le comparer qu'à l'acide de Nicklès, mais que nous avons appris au chapitre précédent à confondre avec l'acide propionique.

En étudiant des vins fortement altérés, sans nous préoccuper de l'examen comparatif du vin sain correspondant, nous allons trouver les mêmes acides en proportions plus considérables.

Voici en effet les proportions, par litre, d'acide acétique et d'acide proprionique dans deux vins très malade de la pousse

	Acide acétique.	Acide propionique.
Vin du Puy-de-Dôme.	2gr,55	2gr,60
Autre vin, même provenance.	1 ,96	1 ,81
Id. *id.*	2 ,59	1 ,55
Id. *id.*	2 ,04	1 ,98
Vin de Bourgogne.	0 ,615	0 ;610

On voit que dans tous ces vins, il ne se forme pas seulement des traces d'acide propionique, mais des quantités quelquefois supérieures en poids à l'acide acétique. Les quantités, évaluées en équivalents, sont toujours un peu inférieures, et il ne semble pas que les proportions entre les deux acides nous permettent de

continuer à accepter l'analogie que nous signalions plus haut, entre la maladie de la pousse et la fermentation du tartrate de chaux, telle que nous l'avons définie au chapitre précédent, et où nous avons vu qu'il se formait 2 équivalents d'acide propionique contre 1 d'acide acétique. Mais d'une part, l'acide acétique peut provenir dans un vin d'autres actions que celles du ferment de la pousse. D'un autre côté la fermentation du tartre dans le vin s'accomplit dans un milieu acide et non dans un milieu neutre, comme dans les expériences du chapitre LIII, et cela peut bien introduire quelques variations dans les résultats.

Quoi qu'il en soit, nous avons là une fermentation du tartre, se faisant avec dégagement d'acide carbonique pur, et production d'acide acétique et d'acide propionique. Ces caractères, unis aux caractères morphologiques du ferment, suffisent, si l'on s'en rapporte à tous les cas connus jusqu'ici, à définir la fermentation, et nous avons le droit d'appeler *maladie de la pousse*, celle qui présentera tous ces caractères. Si une autre maladie se présente avec des caractères communs, et d'autres différentiels, il faudra, examen fait de ceux-ci, la classer à part. Nous allons trouver un exemple où nous pourrons appliquer cet ordre de considérations.

IV. — MALADIE DES VINS TOURNÉS DU MIDI DE LA FRANCE

M. A. Gautier a décrit sous ce nom, une maladie qu'il croit ne pouvoir être confondue avec celle qui précède. Elle s'observe surtout après les automnes chauds et pluvieux, particulièrement quand la moisissure a envahi la grappe. On peut la constater quelquefois dès le début de l'hiver, après le premier soutirage. Le vin contenu dans des tonneaux clos se conserve bien en apparence, sans dégager d'acide carbonique, et sans présenter le phénomène de la pousse. Examiné avec soin au grand jour, dans du verre blanc, on y remarque un léger brouillard brillant, mais exposé à l'air quelques heures, il devient peu à peu trouble, il s'irise à la surface; sa matière colorante semble s'oxyder rapidement, elle passe du rouge au violet bleuâtre, et finit par se déposer sous forme d'un précipité sale, couleur bistre, tandis que la liqueur surnageante ne garde qu'une teinte brun jaunâtre, une odeur de cuit, et un goût acidulé et légèrement amer.

L'examen chimique prouve que dans ces vins, l'alcool n'a pas varié, mais que le tannin et le tartre sont entièrement modifiés ou même ont complètement disparu. A leur place, on trouve de l'acide acétique en quantités très sensibles, de l'acide tartronique et une notable proportion d'acide lactique.

Il est facile de trouver une équation expliquant la formation de ces produits aux dépens de l'acide tartrique de la crème de tartre. On a en effet:

1° Formation d'acide tartronique et d'acide acétique

$$2C^8H^6O^{12} = 2C^6H^4O^{10} + C^4H^4O^4$$

et 2° formation d'acide tartronique et d'acide lactique

$$3C^8H^6O^{12} = 3C^6H^4O^{10} + C^6H^6O^6.$$

Il convient de signaler tout de suite, à ce sujet, que Balard, dans des vins dits

tournés, avait précisément trouvé de l'acide lactique et de l'acide acétique qu'on avait prétendu ensuite être de l'acide propionique. Il est probable au contraire que Balard ne s'était pas trompé, et qu'il a eu sous les yeux la même maladie que M. A. Gautier.

Quel est le parasite qui la détermine? Dans les vins qui en sont atteints, M. A. Gautier signale des filaments qu'aucun caractère bien précis ne distingue de ceux décrits plus haut comme appartenant à la maladie de la pousse, et en outre des filaments plus rares « à articles alternativement clairs et obscurs », ce qui n'est point une description suffisante, beaucoup de filaments pouvant se présenter quelquefois sous cet aspect. Contrairement à ce que pense l'auteur, il n'est pas possible, avec ce seul caractère, de distinguer ce parasite de ceux que Balard avait rencontrés dans le vin qu'il a étudié. Le ferment lactique, dont Balard a rapproché ceux qu'il a constatés dans ce vin, peut dans certains cas se présenter sous forme de granulations en grains de chapelet, et ressemble beaucoup au microbe décrit par M. Gautier, beaucoup aussi à celui que nous avons vu, à la la fin du chapitre LIII, présider à la fermentation du tartrate d'ammoniaque. M. Pasteur a aussi trouvé de l'acide lactique dans un vin fermenté en présence de filaments. Ce que nous avons vu à propos des fermentations des tartrates nous montre qu'il peut y avoir là un ferment spécial. Les ressemblances morphologiques qu'il présente avec celui de la pousse ne peuvent pas nous empêcher de l'en distinguer, s'il est reconnu qu'il préside, comme le croit M. Gautier, à une formation d'acide tartronique, d'acide acétique et d'acide malique.

Il n'est pas douteux, en effet, qu'on ne doive séparer absolument de la maladie de la pousse, définie comme nous l'avons fait plus haut, une maladie dans laquelle il ne se dégage pas d'acide carbonique, où, par suite de la réaction définie par les formules de plus haut, l'acidité due aux acides fixes augmente, ou au moins reste stationnaire, tandis qu'elle diminue dans la maladie de la pousse, une maladie enfin où les conditions de solubilité de la matière colorante sont tellement modifiées qu'il suffit d'une légère oxydation pour la précipiter en entier. Cette maladie étant caractérisée par un changement de couleur, qui tourne au jaune, il paraît naturel de lui conserver le nom qu'elle porte déjà dans le Midi, de *tourne* ou du *vin tourné*. Il faudra seulement en déterminer plus exactement l'agent, et bien la distinguer de la maladie des vins poussés que nous avons suffisamment définie tout à l'heure.

V. — VINS GRAS OU FILANTS

La maladie de la graisse, rare dans les vins rouges, est au contraire fréquente dans les vins blancs, particulièrement dans les vins jeunes et faibles. Ceux du bassin de la Loire et de l'Orléanais, et aussi ceux d'Allemagne y sont particulièrement exposés. On la constate souvent déjà avant le premier soutirage. Le vin commence par se troubler, par devenir nuageux, et prend une consistance visqueuse, mucilagineuse, qui peut augmenter jusqu'à rappeler celle de l'albu-

mine. Transvasé, il file comme de l'huile; agité vivement, il dégage beaucoup d'acide carbonique et devient un peu plus fluide.

La maladie apparaît également sur le vin en tonneaux ou sur le vin conservé en bouteilles. D'après Nessler, elle n'atteint pas les vins renfermant plus de 11 p. 100 d'alcool; mais cette limite doit être variable avec la température et la nature du vin.

Dans un vin devenu gras ou filant, on trouve toujours des petits chapelets de globules sphériques, fig. 99, rappelant ceux que nous avons vus présider à la formation de la gomme de sucrerie. Leur diamètre, variable suivant les conditions de milieu, est voisin de 1µ. L'ensemble de ces grains figure quelquefois un filament dont les divisions sont très peu distinctes, et quelquefois, comme avec la gomme de sucrerie, l'être semble empâté dans une masse mucilagineuse qui rappelle le sac muqueux des *actinobacter*.

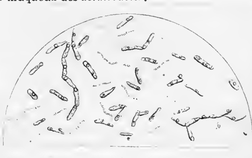


Fig. 99. — *Ferment du vin gras.*

Ce sont ces empâtements mucilagineux qui donnent au vin son caractère filant. En agitant le vin, on détruit leurs adhésions mutuelles, et cela suffit pour augmenter un peu la fluidité; peut-être aussi la gelée se concrète-t-elle un peu par l'agitation. En tout cas, ce qui prouve qu'elle est bien particulière au filament, et que le vin, en tant que vin, ne joue aucun rôle dans sa production, c'est qu'on peut rendre très visqueuses des solutions de sucre de canne, en y introduisant quelques gouttes de vin gras, et en exposant le mélange à une température convenable.

Il ne faut même pas beaucoup de sucre pour obtenir cet effet. D'après Nessler, des solutions sucrées à 1/2 et 1 p. 100 deviennent déjà fortement visqueuses. Elles le deviennent davantage avec 5 ou 10 p. 100 de sucre. Le sucre de canne et le sucre de raisin ne se comportent pas de même. Le sucre de canne, en solution neutre, devient très rapidement filant sous l'influence d'un peu de semence, et son mucilage est précipité par l'alcool. Le sucre de raisin en solution neutre ne donne pas de mucilage, il ne se transforme que lorsqu'il est en solution acide, et son mucilage n'est pas alors précipité par l'alcool. Tous ces faits sont encore à rapprocher de ceux que nous avons constatés à propos de la gomme de sucrerie.

Il est probable, d'après tous ces faits, que la substance atteinte dans le vin est, ou bien le sucre, dont la fermentation complète est toujours plus lente dans les vins blancs que dans les vins rouges, ou, à défaut de sucre, cette matière analogue à

la gomme ou à la dextrine, dont nous avons signalé la présence dans le vin. Une autre cause qui rend la maladie plus fréquente dans cette sorte de vins, c'est qu'ils sont en général bien moins riches en tannin que les vins rouges. Les expériences de M. François, pharmacien à Châlons, ont, en effet, montré qu'une addition de tannin à un vin filant suffisait à empêcher la maladie de s'y développer, et même à la faire disparaître.

Il y a du vrai et du faux dans cette action attribuée au tannin. Un vin filant ne cesse pas d'être filant lorsqu'il a été agité avec du tannin, et il est probable qu'aucun des milliers de propriétaires de la Champagne qui ont traité, par le procédé de M. François, leurs vins en voie de devenir gras, n'a constaté autre chose qu'un arrêt dans le développement de la maladie, accompagné, si l'on veut, de la petite amélioration apparente que produit le fouettage du liquide pendant qu'on y mélange la solution de tannin, ou encore du collage que l'addition du tannin produit toujours dans un vin blanc, et qui peut entraîner au fond du vase tout ou partie des masses mucilagineuses.

Cette action du tannin s'expliquait autrefois facilement lorsqu'on croyait à la nature albuminoïde de ces masses mucilagineuses. Cependant le vin gras ne donne pas de coagulum à l'ébullition; bien mieux, il arrive souvent que le tannin qu'on y ajoute ne le trouble pas; mais, sur ce point encore, l'explication de son effet supposé était tellement simple, qu'on aimait en général mieux ne pas croire à ce qu'on voyait que de révoquer l'explication en doute. Ce qu'il y a de sûr, c'est que le microbe des vins filants se développe moins facilement en présence du tannin, et qu'il suffit, lorsqu'on fabrique du vin blanc, de laisser quelques heures les raisins écrasés au contact de la grappe avant de les presser, pour que le moût obtenu ait moins de tendance à donner du vin filant que lorsqu'on porte immédiatement les raisins écrasés à la presse.

Il resterait, pour bien connaître cette maladie, à faire l'étude de la substance qu'elle attaque et des produits qu'elle amène dans le vin. Sur ces deux points, on n'a pas encore de renseignements précis. C'est un sujet sur lequel il y a encore beaucoup à faire, et que la facilité avec laquelle on communique le caractère visqueux à des solutions de sucre, au moyen de quelques gouttes de vin filant, rend pourtant très facile à étudier.

VI. — MALADIE DE L'AMERTUME

Nous connaissons déjà la maladie de l'amertume qui saisit les vins après un soutirage et une oxydation, et qui est même si commune en Bourgogne qu'elle y porte le nom de maladie de la bouteille. Cette amertume se constate dans les premiers jours qui suivent l'embouteillage. Elle pourrait persister si le vin restait en vidange, soumis au contact de l'air, mais d'ordinaire elle disparaît vite, et les vignerons ont appris à ne pas s'en préoccuper. Elle n'a rien de commun avec une autre maladie, caractérisée aussi par une amertume plus ou moins sensible, et qui est tous les ans, pour le commerce de la Bourgogne, une cause de pertes notables, attendu qu'elle saisit de préférence les plus grands vins, et peut, en quelques semaines, en déprécier tout à fait la valeur.

Au début du mal, le vin présente une odeur particulière, et une couleur moins vive. Au goût on le trouve fade, les tonneliers bourguignons disent qu'il *doucine*. La saveur amère n'est pas encore apparente, mais elle ne tarde pas à se prononcer, et elle s'accompagne tout d'abord d'un petit goût piquant, dû sans doute à la présence du gaz acide carbonique. Puis se forme un dépôt plus ou moins volumineux, flottant, formé surtout de matière colorante, car le vin se dépouille, vire au jaune et n'est bientôt plus potable.

Examiné au microscope, le dépôt d'une bouteille de vin où l'amertume commence à se déclarer présente des filaments, fig. 100, très ténus, d'aspect raide, et



Fig. 100. — *Ferment de l'amertume.*

Moitié gauche : Ferment incrusté de matière colorante.
Moitié droite : Ferment jeune.

immobiles. Leur diamètre est voisin de celui des filaments de la pousse, et ne dépasse guère 1µ. Ils sont enchevêtrés d'ordinaire les uns dans les autres, et lorsqu'ils sont très jeunes, on voit qu'ils sont divisés par une série d'articulations peu flexibles en une série d'articles plus ou moins courts. Mais cet aspect ne persiste pas longtemps chez eux. Le dépôt de matière colorante, dont leur développement dans le vin hâte certainement la précipitation, se fait en partie sur les filaments, et les recouvre d'une couche plus ou moins épaisse, mamelonnée et rougeâtre. Il se produit aussi, grâce à cet enduit de matière solide, des soudures entre les articles primitivement juxtaposés qui figurent alors des sortes de branchages rameux, et l'illusion est d'autant plus facile que la matière colorante se dépose çà et là sous forme de petites nodosités qui sont comme des bourgeons, de sorte qu'on croirait avoir sous les yeux des amas de branches mortes, et que l'aspect de ces ferments enduits de matière colorante est tout à fait différent de celui qu'ils présentaient à l'origine. Mais il suffit de les traiter par un peu d'alcool acidulé pour dissoudre la couche colorée qui les recouvre,

et on les retrouve au-dessous avec leur aspect incolore et leurs caractères originels.

La matière colorante se dépose du reste en dehors d'eux, en mamelons plus ou moins gros, qui s'agglomèrent en masses amorphes, ou bien elle s'étale à la surface du verre de la bouteille, en y formant des plaques plus ou moins mamelonnées à leur surface. La fig. 100 présente quelques-uns de ces aspects. Dans sa moitié gauche, elle donne l'aspect du dépôt d'un vin devenu amer, avec les filaments incrustés, les plaques de matière colorante et quelques cristaux de tartrate de chaux que le dessinateur a rencontrés. Dans sa moitié droite, elle donne l'aspect des filaments jeunes, ou bien privés, par un lavage à l'alcool acidulé, de leur matière colorante.

Quels sont, au point de vue chimique, les résultats de l'invasion de ce parasite, et d'abord à quel élément s'attaque-t-il ? Dans un vin où la maladie de l'amer était très développée, M. Pasteur n'a pas trouvé moins d'acide tartrique que dans le même vin resté sain. Ce n'est donc pas le tartre qui est atteint dans cette maladie, et cela seul, en dehors des caractères organoleptiques et extérieurs, suffirait à distinguer cette maladie de celle de la pousse. M. Pasteur a trouvé un peu moins de glycérine dans le vin amer que dans l'autre; nous aurons à rappeler tout à l'heure ce renseignement.

Pour les produits de la réaction, nous avons les résultats d'une étude faite sur un vin de Pomard de 1863, sur lequel on commença en 1865 à voir apparaître la maladie de l'amer. Une portion de ce vin fut chauffée en bouteille, en juillet 1865, par M. Pasteur, et conservée à la cave à côté du même vin non chauffé. En 1866, le vin non chauffé présentait un dépôt considérable, représentant à la décantation le dixième du contenu de la bouteille. Le vin chauffé s'était conservé tel qu'il était à l'origine. Ces deux échantillons de vin ont été étudiés en 1866 et 1872 par M. Pasteur. J'ai de mon côté, refait en 1873 cette même étude pour caractériser la nature des acides volatils que M. Pasteur avait laissée de côté. On a déterminé, à ces diverses époques, l'équivalent en acide acétique de l'acidité par litre, due aux acides volatils, et de l'acidité totale. Le tableau ci-dessous résume les chiffres trouvés.

	Acides volatils.	Acidité totale.	Acide acétique.	Acide butyrique.
Vin sain.	1gr,01	4gr,40	0gr,97	0gr,04
Vin malade 1866.	1 ,5	5 ,18	»	»
Id. 1873.	1 ,95	6 ,67	1 ,83	0 ,19

Les nombres de ces tableaux prêtent à diverses remarques.

On voit en premier lieu que l'augmentation de l'acidité totale dans le vin malade est supérieure à l'augmentation due aux acides fixes. C'est le contraire de ce que nous avions trouvé avec la maladie de la pousse. La maladie de l'amer développe donc des acides fixes en même temps que des acides volatils.

De là, la présomption qu'elle affecte une substance neutre comme la glycérine. Nous avons vu en effet que lorsqu'une substance acide était atteinte par la fermentation, il y avait presque toujours une perte d'acidité par suite de la formation d'acide carbonique, et même que, dans la grande majorité des cas, on retrouvait à l'état de carbonate de chaux la moitié de la chaux existant à l'ori-

gine dans le sel mis en fermentation. L'augmentation d'acides est au contraire le cas général de la fermentation des substances neutres, et si nous rapprochons cette notion du fait que nous avons signalé plus haut, de la disparition de la glycérine dans la maladie de l'amertume, nous serons conduits à supposer que c'est la glycérine qui fermente.

Il serait utile de n'en être pas réduit à une hypothèse sur ce sujet important. Quoi qu'il en soit du reste, on voit que les acides volatils ne sont pas les mêmes que dans la maladie de la pousse. L'acide butyrique remplace ici l'acide propionique, mais il est en proportions beaucoup plus faibles vis-à-vis de l'acide acétique. Il est probable que ces deux corps ne sont pas les termes uniques de la réaction. Il se forme aussi une matière amère dont on ne connaît pas la nature, et probablement aussi des alcools de degrés supérieurs.

L'importance de cette maladie pour le commerce des vins aurait dû la faire étudier de très près. Nous avons dit qu'elle attaquait les grands vins de Bourgogne. Ce n'est pas sur eux qu'elle se développe le plus facilement, car on la trouve plus souvent sur le vin de Gamai que sur celui de Pinot, mais c'est sur les grands vins qu'on l'observe le plus souvent, parce qu'on les laisse vieillir plus que les autres, et que les pertes avec eux sont plus sensibles. Il arrive quelquefois pourtant, mais rarement, que la maladie de l'amer, après avoir débuté franchement avec eux, semble disparaître, ou au moins devient ensuite méconnaissable. Il faut sans doute attribuer ce résultat à l'incrustation des filaments par la matière colorante, qui peut très bien, lorsqu'une raison quelconque, tirée de la constitution du vin, de la température de la cave, en provoque à un moment donné un dépôt plus abondant, empâter les filaments du microbe d'une couche tellement épaisse que leur vie devient impossible. Les faibles proportions d'acides produits disparaissent peut-être par éthérification, la matière amère semble de son côté assez facilement oxydable, si elle est identique à celle qui se développe dans les circonstances que nous signalions en commençant cette étude, de sorte que le vin peut redevenir très bon après avoir paru perdu. Mais ces cas sont et doivent être rares, et le fait le plus fréquent est celui de la détérioration de plus en plus profonde, et souvent très rapide, d'un vin dans lequel a apparu la maladie de l'amer. Nous verrons au prochain chapitre quels sont les moyens pratiques de s'opposer au développement de cette maladie et de ses congénères, et comment on peut les prévenir d'une façon sûre par l'application de la méthode de chauffage imaginée et préconisée par M. Pasteur.

VII. — MALADIES DES BIÈRES

Les bières sont sujettes à des maladies identiques à celles du vin et à d'autres qui leur sont particulières. La figure 101 représente, rassemblés et dessinés à une échelle commune, les divers ferments qu'on y rencontre le plus ordinairement. On a figuré dans le champ des globules de levure de bière afin de donner une idée du rapport des grosseurs. La figure est partagée en une série de secteurs irréguliers dont nous relèverons facilement la place au moyen des numéros qu'ils portent.

Dans le secteur 1, on retrouve les filaments de la bière *tournée*. Ce sont de petits filaments souples ou articulés, formant parfois des chaînes de longueurs variables. Ils sont toujours un peu plus gros et semblent un peu mieux nourris dans la bière que dans le vin. Ils y sont très fréquents. Il est peu de bières un peu vieilles qui n'en présentent quelques articles, et il ne faut pas qu'il y en ait beaucoup pour que la saveur avertisse de leur présence.

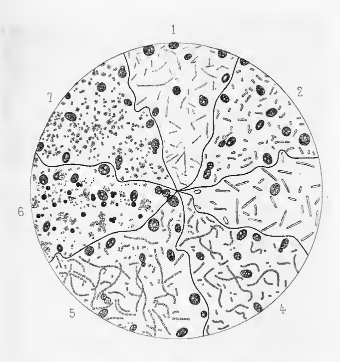


Fig. 101. — *Ferments divers des maladies de la bière.*

Le secteur 2 présente le ferment lactique. On voit que la différence est profonde avec le filament de la bière tournée. C'est qu'ici encore, le petit article lactique est très turgescent et son étranglement assez bien marqué ; mais qu'on le suppose plus effilé, plus maigre, plus allongé, on le confondra très bien avec les plus petits articles du ferment de la *tourne*. C'est ce que nous faisions remarquer dans le présent chapitre, à propos de la description, donnée par Balard, des êtres qu'il avait observés dans un vin tourné du midi de la France.

Le secteur 3 représente une espèce d'êtres qu'on a le droit de rapprocher des vibrions de la putréfaction. Ils en ont la forme, le caractère anaérobie, et leur présence s'accompagne d'une odeur putride qui rend la bière impotable. On ne les rencontre pas dans les vins, que leur acidité protège ; même dans les bières, ils sont rares, et n'apparaissent que lorsque le travail est très défectueux ; mais une fois développés, ils sont très difficiles à faire disparaître de

la fabrication, où ils circulent, apportés par la levure. Un changement de levure et un nettoyage parfait des ustensiles peuvent seuls les éliminer.

Nous retrouvons dans le secteur 4 le ferment visqueux, celui qui rend les bières grasses ou filantes. Encore ici, il faut signaler le caractère en général mieux portant de ces micrococcus lorsqu'ils sont développés dans la bière. Les articles sont plus ronds et plus pleins, les chapelets plus longs. La maladie est assez fréquente sur les bières, grâce à la forte proportion de dextrine que ces produits renferment toujours. Elle y serait plus fréquente si les bières étaient en moyenne conservées plus longtemps. Mais l'emploi de la glace et leur rapide consommation leur sont une protection en général suffisante.

Le secteur 5, qui vient ensuite, contient du *mycoderma aceti* en chapelets plus ou moins longs. Les articles, quand ils sont isolés, ressemblent beaucoup au ferment lactique. Cependant, dans la bière surtout, le *mycoderma aceti* est presque toujours plus grêle. Toutefois la confusion est facile, et il est bon que la figure les représente rapprochés. Mais nous savons que ces considérations de forme n'ont aucune importance, et que, malgré leur ressemblance, le *mycoderma aceti* et le ferment lactique ont des fonctions physiologiques fort diverses.

Nous étudierons ensemble les deux secteurs 6 et 7, parce qu'il est important de ne pas confondre les granulations qu'ils représentent. Celles du premier sont mortes. Ce sont des granules amorphes formés pendant le refroidissement du moût, et dont les plus ténus restent quelquefois en suspension dans la bière. Ils sont constitués par une matière résineuse, coagulée de préférence en petites sphérules, et par des produits d'oxydation. Ils ont quelquefois un aspect très homogène; mais d'ordinaire, ils sont de tailles inégales et de degrés de réfrigence divers.

Les granulations du secteur 7 ont au contraire un aspect très homogène et très régulier. On les rencontre à l'état de grains isolés, de grains doubles, et d'associations par quatre en carré, qui rappellent les *merismopædia*. Elles caractérisent une maladie particulière, encore peu connue mais très fréquente, dans laquelle la bière est acide à la façon des fruits verts, et présente une odeur particulière. Elles accompagnent d'ordinaire les filaments du tourné, mais sont bien plus redoutables qu'eux. La bière un peu tournée est encore potable, mais, avec le ferment en grains, elle prend bientôt un goût aigre et une odeur qui la rendent détestable.

A quoi s'attaque ce ferment, et quels sont les produits de son action? C'est ce qu'on ne sait pas encore. Toutes ces maladies de nos boissons les plus communes, car elles attaquent aussi le cidre, sont, comme on voit, encore très peu connues au point de vue chimique.

BIBLIOGRAPHIE

PASTEUR. — *Études sur le vin*. 1re édit., 1866; 2e édit., 1872.
BALARD. — *Comptes rendus*, t. LIII, p. 1226.
BÉCHAMP. — *Comptes rendus*, t. LV, p. 1148.

Glénard. — *Annales de la Société d'agriculture de Lyon*, t. VI.
Nicklès. — *Comptes rendus*, t. LV, p. 1219.
Duclaux. — Recherches sur les vins. *Ann. de chim. et de phys.*, 5e sér., t. III, 1874.
A. Gautier. — Sur une maladie non encore décrite des vins du midi de la France dits *vins tournés*. *Comptes rendus*, t. LXXXVI, p. 1338, 1878.
Neubauer. — *Ann. der Œnologie*, 1871.
Nessler. — *Behandlung des Weines*. Stuttgart, chez Ulmer, 2e édit.
— La préparation du vin. *Mon. scientifique*, t. VIII, p. 326.
François. — Sur la cause de la graisse des vins. *Ann. de chim. et de phys.*, 2e sér., t. XLIV, p. 212, 1829.
Mulder. — *Chemie der Weines*. Leipzig, chez Weber.
Schnetzler. — Quelques observations sur la mère du vinaigre, la fleur du vin et les vins filants *Mon. scientifique*, t. X, p. 206.

CHAPITRE LV

ORIGINE DES MALADIES DU VIN. — MOYENS DE LES PRÉVENIR

Maintenant que nous connaissons les causes des maladies qui atteignent les boissons fermentées, nous avons à nous demander quelles sont les circonstances qui les provoquent, et comment on peut se mettre en garde contre elles. Ce sont là deux questions auxquelles les travaux de M. Pasteur permettent de faire une réponse précise.

Origine des maladies du vin. — Sur le premier point, il n'est pas douteux que ce ne soit la vendange elle-même qui apporte dans la cuve de fermentation les germes plus ou moins abondants des êtres qui, en se développant plus tard dans le vin, en compromettront la bonne tenue. Dès la fin de la fermentation, avant le premier soutirage, il est toujours possible de trouver et de reconnaître au microscope, parmi les globules de levure et les éléments si variables des premières lies, des êtres tout pareils à ceux qui produisent les maladies. Ces parasites sont plus ou moins abondants, mais il est rare qu'ils fassent totalement défaut.

Leur présence n'a rien de surprenant. Les raisins de la vendange ont tous été exposés à l'air, et leur surface est couverte d'une couche gommeuse ou cireuse adhésive. Beaucoup ont traîné sur le sol. Beaucoup se sont ouverts et ont donné asile, soit à des mucédinées, soit aux ferments si divers qui voyagent dans l'air, toujours en quête d'un milieu pour s'implanter. Tous ces germes entrent à la fois dans la cuve de vendange. Quelques-uns ne se développeront jamais ni dans le moût en fermentation, ni dans le vin qui en résulte. Ce sont d'abord tous les gros infusoires, d'autre part les germes des moisissures aériennes, les infusoires, à cause de l'acidité de liquide et de l'absence d'air, les moisissures pour cette dernière cause seulement. La cuve de vendange, même ouverte à sa partie supérieure, est fermée, nous l'avons vu, à l'introduction de l'oxygène. On peut même affirmer que pendant les premiers jours au moins, le rapide développement de la levure de raisin étouffera toutes les autres végétations parasites, ou au moins entravera leur reproduction.

Mais lorsque les globules de levure auront accompli leur premier travail, le liquide qu'ils ont transformé et qu'ils abandonnent pourra, si les conditions sont favorables, être envahi par les ferments des diverses maladies. Il ne nourrira, il est vrai, que celles qui s'accommodent d'un liquide alcoolique et acide, mais le monde des infiniment petits est tellement peuplé qu'il y a beaucoup d'espèces dans ce cas, et qu'il n'y a lieu de s'étonner que d'une seule chose, c'est que le chiffre des maladies du vin ne soit pas plus grand. Il est probable qu'il n'est aussi petit que par suite de l'imperfection de nos connaissances.

Encore même, dans la cuve en fermentation, il y a un lieu d'élection où les ferments de maladie doivent s'implanter de préférence, c'est cette masse volumineuse de grappes, de pellicules et de débris divers qui s'élève à la surface et forme le chapeau. C'est là aussi que le sucre disparaît le plus rapidement, à cause de l'abondance des globules de levure que la fermentation elle-même y amène. Le contact de l'air est là plus facile et plus parfait qu'ailleurs. Nous savons que c'est là que se produisent dès l'origine des phénomènes d'acétification. De là sans doute une des raisons d'être de la pratique de fermer les cuves, ou de tenir le chapeau immergé, ou de l'enfoncer périodiquement dans la masse de la vendange.

On ne corrige pas ainsi le mal, on l'empêche seulement de prendre de trop grandes proportions, en empêchant le *mycoderma aceti* de se multiplier à l'aise, et on en masque les effets en répartissant dans la masse du vin l'acide acétique déjà produit. Mais il est évident, *a priori*, qu'il n'y a pas que du *mycoderma aceti* en plein développement dans un milieu organique comme le chapeau, où les conditions d'aération et de température sont si favorables, et qu'une foule d'êtres et, de préférence, ceux qui produisent les maladies du vin doivent aussi y trouver un terrain exceptionnellement favorable.

De là la conclusion, si notre induction est juste, que le vin qu'on retire du chapeau ou même des marcs par la pression, ce qu'on appelle vin de pressurage, devra être plus envahi par les parasites que le vin clair, et pourra, à une époque très voisine du commencement de la fermentation, offrir déjà développées, perceptibles au goût, et accessibles aux moyens analytiques, ce qu'on appelle les maladies du vin.

Vins de pressurage. — Ces inductions sont d'accord avec l'expérience. Pour le faire voir, j'ai partagé un lot de vendanges de raisins noirs en trois parts. L'une a été écrasée et mise à fermenter en entier, à la manière ordinaire. Dans la deuxième, on a enlevé les pellicules et on n'a laissé que les grappes et les pépins; ce sont les conditions de la fabrication des vins blancs. Dans la troisième, on a fait l'inverse et on n'a laissé que les pellicules. Ces trois lots ont été ensemencés avec des quantités égales de levure de vin fraîche. Lorsque la fermentation a été terminée, on a soutiré le liquide au clair et pressé les marcs. Les vins de pressurage troubles ont été laissés une dizaine de jours en contact avec leurs lies, qui ont constamment fermenté dans l'intervalle. Voici, évaluées en acide acétique, les quantités d'acide contenues dans un litre de ces diverses espèces de vins :

	Vin clair.	Vin de pressurage.
	—	—
N° 1. Fermentation ordinaire	0gr,161	0gr,370
N° 2. Sans pellicules	0 ,209	0 ,290
N° 3. Sans grappes ni pépins	0 ,196	0 ,507

On voit que c'est la fermentation normale, avec soutirage du vin aussitôt que possible, qui s'accompagne de la production de la plus faible quantité d'acides volatils. On voit en outre que les vins de pressurage renferment tous plus d'acides volatils que le vin correspondant.

On pourrait objecter que ce sont là des expériences de laboratoire. Mais dans la fabrication en grand on retrouve les mêmes résultats. Voici les quantités d'acides volatils trouvées dans un vin du Puy-de-Dôme et dans le vin de pressurage correspondant.

	Acide acétique.	Acide butyrique.
	—	—
Vin du Puy-de-Dôme, 1872	0gr,109	0gr,015
Même vin, pressurage	0 ,360	0 ,050

Acides volatils normaux dans le vin. — On se tromperait pourtant en attribuant aux ferments de maladie la production de tous les acides volatils qu'on rencontre dans les vins aussi jeunes. Rappelons-nous en effet que la levure, pendant le procès physiologique de la fermentation, donne elle-même des quantités d'acide volatil qui ne sont pas hors de proportion avec celles que nous venons de rencontrer. Nous avons donné au chapitre XXXIII quelques chiffres à ce sujet; en voici un autre que j'ai gardé pour le mettre en rapport avec l'objet de notre étude. J'ai eu l'occasion de rencontrer une levure tellement pure que j'ai pu en conserver 55 grammes environ dans un litre environ de liquide, pendant plus de huit mois, à la cave, sans qu'elle s'altérât. Dans le liquide qui la baignait, j'ai retrouvé 0gr,926 d'acide acétique et 0gr,032 d'acide butyrique, c'est-à-dire les mêmes acides que ceux que je rencontrais dans des vins jeunes et francs de goût.

Les acides butyrique et acétique paraissent donc pouvoir être des éléments constants du vin, et y être introduits par la vie normale de la levure qui lui donne naissance. Mais ils y existent en faible quantité à l'origine, l'acide acétique dans les proportions de 1 à 2 décigrammes par litre, l'acide butyrique en quantité inférieure à 50 milligrammes. J'y ai reconnu aussi, du moins dans quelques-uns, l'acide valérianique, mais en proportions à peine dosables et qui ne doivent jamais dépasser 10 milligrammes par litre.

Toutes les fois que les quantités d'acide volatil sont supérieures à celles que nous venons d'indiquer, on peut affirmer, à moins de circonstances exceptionnelles, que les ferments de maladie sont intervenus. Dès le premier soutirage, en effet, les quantités de levure qui restent et se multiplient dans le vin sont toujours très faibles, et les parasites, dont nous savons que le vin contient toujours les germes prêts à se développer, sont les seuls producteurs d'acides que les vins renferment.

Produits divers de l'action des ferments. — Il est clair, *a priori*, qu'ils ne se bornent pas à produire des acides volatils, et que le vin devra renfermer en fractions infinitésimales tous les produits si divers qui peuvent résulter de l'action des ferments présents dans la masse de vendange. Nul doute qu'il n'y ait dans le résidu volumineux qu'un vin laisse à l'évaporation bien des substances diverses que l'avenir apprendra à y découvrir, et dont la plus grande partie provient, ou de la fermentation normale, ou des fermentations secondaires. Parmi celles qui ont pour origine des ferments de maladie, voici celles qui sont les mieux connues.

Il y a d'abord des alcools de degrés supérieurs, propylique et surtout amylique. J'ai pu en mettre la présence en évidence dans tous les vins que j'ai étudiés. Leur proportion n'est pas négligeable. Dans un vin de Nîmes elle dépassait $\frac{1}{1000}$ du volume du vin ou $\frac{1}{100}$ du volume de l'alcool. La séparation de ces alcools de l'alcool ordinaire est possible au moyen du charbon ou du noir animal; mais je n'en ai pas poussé plus loin l'étude.

J'ai constaté que ces alcools de degrés supérieurs étaient surtout abondants dans le liquide qu'on extrait du chapeau de la vendange, et dans les vins de pressurage. Leur proportion augmente aussi dans les bières ou les vins malades.

M. Henninger paraît avoir retrouvé depuis ces alcools de degrés supérieurs, et il a en outre découvert, dans un vin de Bordeaux authentique, du butylglycol bouillant à 178°,5, en proportions qui paraissent voisines de 1/2 p. 1000. Il n'est pas encore démontré, il est vrai, que ce glycol provienne de la fermentation, mais cela est très probable.

Signalons enfin, comme se rattachant probablement aussi à l'action des ferments, la triméthylamine découverte par Ludwig dans le vin, si elle ne provient pas d'une action décomposante exercée sur certaines matières albuminoïdes par la soude employée à la séparer. De la découverte de ces substances rares, trouvées dans la partie volatile des matériaux du vin, qui est la plus facile à étudier, on peut conclure aux surprises que réserve l'étude de la partie fixe, quand la science sera prête à l'entreprendre. On retrouvera là des témoins de l'existence de tous les ferments qui ont vécu et se sont développés dans un vin depuis sa naissance, et qui ne deviennent apparents pour nous que lorsqu'ils sont en quantité suffisante pour en modifier la saveur ou l'odeur.

Soutirages. — C'est évidemment le besoin inconscient d'éviter la multiplication de ces germes dangereux, plutôt que la préoccupation d'éliminer la levure à peu près inoffensive, qui a dicté aux vignerons la pratique des soutirages de printemps et d'automne. Ce sont là, comme nous l'avons fait remarquer, des époques critiques. La première est celle où la chaleur commence à pénétrer les caves et celliers, et où le vin, saturé à froid d'acide carbonique, ne peut supporter une élévation de température sans que des bulles de gaz s'élèvent au ravers de la masse et viennent en troubler la limpidité; c'est aussi le moment où la chaleur peut réveiller l'activité des ferments du parasite, rendus inertes par les froids de l'hiver et tombés au fond du tonneau avec les lies

L'automne est le moment où les caves sont le plus fréquemment ouvertes reçoivent de la vendange chaude, sont le siège de fermentations qui produisent de la chaleur, et où il est encore sage de séparer le vin du dépôt qui peut l'altérer.

Ce sont encore les mêmes causes, sans doute, qui font choisir autant que possible, pour soutirer le vin, le moment où règne le vent du nord qui, dans nos climats, souffle surtout quand le baromètre est au-dessus de la moyenne. Il est clair que c'est alors que l'acide carbonique a le moins de tendance à se dégager, et à ramener dans la masse du vin les filaments parasites déposés au fond du tonneau.

Enfin, soit qu'il soit besoin d'y insister, on voit aussi un des bons effets des collages qui entraînent tous les éléments en suspension. Toutes ces pratiques reviennent à une purification plus ou moins complète du vin, mais il est facile de voir qu'aucune n'aboutit à une véritable stérilisation. Elles obligent les ferments à se reformer avant d'agir, ce qui demande toujours quelque temps et permet d'attendre un nouveau soutirage, elles ne les éliminent pas de l'intérieur du liquide. Néanmoins, comme elles en laissent très peu, il n'y en aura pas en tous les points, et on pourra, en divisant la masse en petites fractions, en trouver d'absolument exemptes de parasites et dont la conservation sera assurée. De là la mise en bouteilles, dictée sûrement par le même intérêt que les pratiques qui précèdent.

Mais, comme nous l'avons vu au chapitre XLI, cette mise en bouteilles a des inconvénients. C'est qu'elle supprime désormais sur le vin l'action bienfaisante de l'oxygène. Dans les vases poreux de bois qui le renfermaient, le vin vieillissait peu à peu; dans la bouteille, il n'a plus désormais à sa disposition que l'air qu'il a absorbé pendant le soutirage. Celui-ci utilisé, il est immobilisé dans les qualités qu'il a acquises, et qui ne se modifient plus désormais que d'une manière très lente, par suite de réactions intérieures, comme les phénomènes d'éthérification. Si un vin conservé outre mesure, même en bouteilles, finit par perdre toutes ses qualités, c'est à cause de l'air qui finit par lui arriver, par filtration pénible au travers du bouchon, lorsque l'humidité et les années en ont détruit ou écaillé la cire. Mais c'est un fait bien connu que, dans une bouteille bien bouchée et goudronnée, le vin se *fait* beaucoup moins bien qu'en tonneau. La présence des ferments commande donc de sacrifier le vieillissement du vin à sa conservation.

Procédé de M. Pasteur. — On comprend donc de quel intérêt est une méthode qui permet de supprimer complètement d'un vin les parasites qu'il peut renfermer, de rendre inutiles, corrélativement, toutes les manipulations auxquelles on le soumet, et qui assure la conservation parfaite du liquide, quel que soit le vase où il se trouve renfermé. Le chauffage des vins à 55 ou 60°, préconisé par M. Pasteur, présente tous ces avantages.

La pratique du chauffage des vins avait été proposée par Appert en 1823, et appliquée par lui à du vin de Beaune en bouteilles, dont une partie avait été envoyée faire un voyage au long cours, et l'autre était restée en France. Au bout de deux ans, la comparaison de ces deux vins ne montra en faveur de celui qui était de retour de l'Inde que la différence de saveur que l'on savait résulter du

voyage. Les bouteilles non chauffées, restées en France, ne s'étaient pas altérées. La valeur du chauffage comme moyen de conservation du vin ne pouvait donc pas résulter de cette expérience. Elle ne prouvait rien qu'on ne crut déjà connu, et elle ne semble pas avoir fixé l'attention.

De 1827 à 1829, A. Gervais prit pourtant un brevet, et publia, sur la conservation des vins par le chauffage, des brochures où il recommande cette pratique. Mais comme il n'avait pas réussi à séparer l'effet du vieillissement de l'effet propre de la chaleur, et que les vins ressortaient quelquefois du chauffage avec un goût très différent de celui qu'ils avaient et devaient conserver, il ne réussit pas à tirer cette pratique de l'oubli où elle était depuis Appert.

En 1850, M. de Vergnette-Lamotte eut aussi recours au chauffage, mais comme moyen de voir si des vins qu'on voulait envoyer faire un voyage au long cours pourraient supporter le voyage et la dépense. Si le vin se détériorait par le chauffage en bouteilles, il valait mieux le garder sur place. On pouvait l'expédier s'il résistait.

Ici encore les effets de l'oxygène restaient confondus avec ceux de la chaleur. Il n'est pas de vin, si solide qu'il soit, qui ne se détériore par le chauffage si on le chauffe tant qu'il renferme de l'oxygène. Il n'y a pas de vin malade ou prêt à le devenir qui ne résiste au chauffage, lorsqu'on le fait dans les conditions que nous allons indiquer.

Ces conditions se résument en ceci, ne chauffer le vin que lorsque tout l'oxygène qu'il a pu absorber pendant les soutirages, à quitté l'état de solution ou de combinaison instable qu'il peut contracter, comme nous l'avons vu au chapitre XLI, pour servir à ces oxydations profondes qui en font de l'oxygène vraiment combiné. Au point de vue pratique, cela revient à ne jamais chauffer qu'après une huitaine ou même une quinzaine le vin qui a subi un transvasement ou un soutirage; à moins que ce soutirage ne se fasse comme en Bourgogne, par un procédé qui réduise au minimum le contact de l'air. Après une mise en bouteilles, il faut au moins une quinzaine de repos, à cause de la large surface sous laquelle le vin a été exposé à l'air pendant l'opération.

Si on laisse en contact de l'oxygène libre avec le vin à haute température, on a; ou bien une amertume notable, dépassant celle qui constitue *la maladie de la bouteille* en Bourgogne et passagère comme elle, bien qu'au bout d'un plus long temps, ou bien un goût de cuit, de raisiné même si le contact de l'air a été suffisant. Il y a aussi, et brusquement, des précipitations de matière colorante qui peuvent troubler le vin, et y produire un dépôt flottant qui ne se colle que très difficilement au verre. Bref, il se fait des modifications de goût et de couleur, c'est-à-dire ce que redoutent le plus les négociants en vins, religieux observateurs du précepte de l'école de Salerne: *Vina probantur odore, nitore, sapore.*

Quant à la température du chauffage, elle peut ne pas dépasser 55°. Il faut seulement qu'aucune portion du vin ne reste au-dessous de ce chiffre, car c'est une température minimum, et qui ne suffirait même pas à paralyser l'action des ferments, si le vin, n'était pas un peu acide. Avec les vins faiblement acides et peu alcooliques, il est prudent de s'élever 1 ou 2° plus haut. On peut pour plus de sûreté, chauffer à 58 ou 60° les vins chez lesquels on veut arrêter un commencement de maladie. Il suffit d'ailleurs que cette température soit

atteinte pendant une minute pour que l'effet soit produit. De l'appareil de chauffage, le vin peut passer immédiatement dans le vase de conserve. Il y a seulement à éviter de l'amener encore chaud au contact de l'oxygène, à moins qu'on ne veuille développer chez lui certains goûts, comme on le fait quelquefois dans les pratiques de Mèze et de Cette. Dans les cas ordinaires, il sera prudent de refroidir le vin avant toute manipulation nouvelle.

Les premières expériences de M. Pasteur n'avaient pas été accompagnées de cet ensemble de précautions dont la pratique a démontré peu à peu l'utilité. Elles avaient suffi pourtant à démontrer que le chauffage à l'abri de l'air laissait au vin toutes ses qualités, en détruisant ses parasites. Deux dégustateurs très exercés, apres avoir étudié comparativement des échantillons chauffés et non chauffés des mêmes vins, n'avaient constaté entre eux que des différences insignifiantes qui, dans tous les cas, avaient été à l'avantage du vin chauffé. Désirant faire constater ces résultats de façon à ce qu'ils pussent être portés plus tard à la connaissance du public sous le couvert d'une très grande autorité de la part des juges, M. Pasteur provoqua la nomination d'une commission par la chambre syndicale du commerce des vins à Paris. Vingt et une sortes de vins ont été soumises à l'appréciation de cette commission. Dans tous les cas où le vin non chauffé était devenu malade, elle a trouvé le vin chauffé sain et supérieur comme goût, ce qui démontrait l'utilité de la pratique comme moyen préventif de la maladie. Quand les deux vins s'étaient conservés également sains, la commission a préféré tantôt le vin chauffé, tantôt le vin non chauffé, mais n'a jamais trouvé entre les deux échantillons qu'une « *nuance de goût imperceptible* ». Si les expériences étaient à refaire aujourd'hui, on pourrait rendre encore ces différences plus faibles en surveillant de plus près la disparition totale de l'oxygène avant le chauffage.

Le chauffage préalable est donc sans inconvénient pour le vin, et, en le débarrassant de ces parasites, il lui donne une inaltérabilité qui étonne, tant on est accoutumé à l'idée de la fragilité de cette boisson. C'est ainsi qu'une bouteille de vin chauffé peut rester plusieurs jours en vidange, avec le bouchon simplement posé sur le goulot, sans se couvrir de fleurs. S'il y a pourtant des germes qu'on puisse supposer fréquents dans l'atmosphère, ce sont bien ceux de cette espèce mycodermique, qui est si fréquente, et qui vit au contact de l'air. C'est que les germes qu'on voit se développer dans toutes les bouteilles laissées debout viennent du vin lui-même. On peut affirmer de même qu'il renferme en lui, et a gardé de sa fermentation originelle tous les germes des maladies qui le menacent. Ceux qui lui viennent de l'air ne comptent pas. Il peut donc, une fois chauffé, être manipulé dans les conditions ordinaires, et il n'y a pas d'obligations et de pratique nouvelle qui résulte du chauffage, parce que l'effet de celui-ci a été décisif. Pourtant il est clair qu'il ne faudra pas abuser du passage à l'air dans des caves où les ferments de maladie sont toujours abondants, et qu'on devra toujours mettre le vin dans des vases propres. Mais, en le chauffant une fois dans le cours de son existence, on lui a communiqué des qualités de conservation assurées; car on a fait disparaître, chez lui, la seule cause ordinairement agissante de production de maladies.

Chauffage en bouteilles. — Le chauffage peut se pratiquer également bien sur le vin en tonneaux ou sur le vin en bouteilles. Il est bon seulement, si le vin est déjà en bouteilles, d'opérer un transvasement de façon à éliminer le dépôt, et de ne chauffer qu'après un repos d'une quinzaine. Les bouteilles étant remplies jusqu'à 1 ou 2 centimètres du bouchon, on les ficelle, on les introduit debout, dans un bain-marie qui les baigne jusqu'au niveau de la cordeline, puis on chauffe.

La dilatation du liquide chasse d'abord l'air au-dessous du bouchon, puis le bouchon lui-même, qui est retenu par le nœud de ficelle. Le vin, au cas où la bouteille serait trop pleine, filtre entre le col et le bouchon, et il n'y a aucun danger de casse si les bouteilles étaient fortes et en bon état. On ajoute aux bouteilles de vin une bouteille identique renfermant de l'eau et un thermomomètre. Quand celui-ci marque le degré voulu, on enlève le tout de l'eau, et on laisse refroidir. Quand le liquide s'est contracté, on enfonce le bouchon, on le coupe à niveau du verre et on goudronne.

Chauffage en tonneaux. — Ici, ce qu'il y a de mieux est d'employer un appareil de chauffage au travers duquel on fait circuler le vin, et d'où on le ramène dans un autre tonneau de conserve. Les appareils imaginés dans ce but sont très-nombreux. Nous ne décrirons ici que celui qui a été construit à Béziers, par MM. Giret et Vinas. Il se compose de deux parties : un caléfacteur C et un réfrigérant R, fig. 102. Le vin vient d'une bâche A où il est entreposé. Il vaudrait mieux, pour éviter l'aération pendant ce premier soutirage, le chasser par une pompe au travers de tout l'appareil. Quoi qu'il en soit, il arrive au fond du réfrigérant R, dont il remplit la boîte intérieure E, et où il s'échauffe un peu aux dépens du vin qui, sorti du caléfacteur, remplit le cylindre R en léchant extérieurement et intérieurement les parois de la boîte d'arrivée. De cette boîte le vin passe de haut en bas dans une seconde boîte C identique, contenue dans un bain-marie chauffé par le fourneau S. Les produits de la combustion passent par les tubes T qui traversent l'eau du bain-marie avant de s'ouvrir dans la cheminée K, et le chauffage est rapide et économique. Le vin chauffé sort en D : en *t*, il trouve un thermomètre qui permet de surveiller l'opération, et de modérer ou d'activer l'arrivée du liquide, puis le vin pénètre par en haut dans le réfrigérant, où il abandonne presque toute sa chaleur au vin qui arrive de A. Il sort ensuite par F pour se rendre au tonneau de conserve.

Cette bonne utilisation de la chaleur rend l'opération très-rapide. Un caléfacteur de 60 centimètres de diamètre permet de chauffer à 55° 12 hectolitres à l'heure. Les surfaces en contact avec le vin sont en cuivre étamé. De la tôle étamée ferait tout aussi bien. Ce n'est pas la lenteur du passage de la chaleur au travers du métal qui fait la lenteur du chauffage, c'est la lenteur dans le déplacement des couches liquides en contact avec le métal. La couche refroidie et la couche chauffée ont également de la peine à vaincre leurs adhérences avec les corps solides, lorsque quelque cause de mouvement ne leur vient pas de l'extérieur, et, ce sont elles, bien plus que la différence inappréciable de con ductibilité entre le cuivre et le fer, qui créent la couche mauvaise conductrice

à travers laquelle la chaleur a de la peine à passer. La circulation continue de l'appareil de MM Giret et Vinas élimine en partie cet inconvénient.

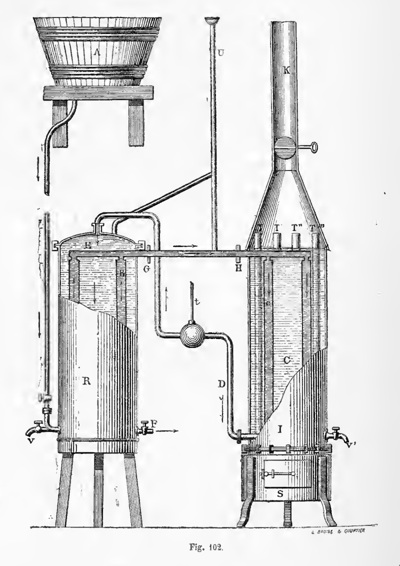


Fig. 102.

Les appareils chauffés par la vapeur l'éliminent davantage. Il en existe de divers modèles dont la description est en dehors de notre sujet. Il était seulement utile de montrer par un exemple l'accord industriel de la théorie et de la pratique; c'est pour cela que nous avons décrit l'appareil de MM. Giret et Vinas. Tous les moyens de chauffage sont bons, où se trouvent respectées les conditions théoriques que nous avons posées plus haut.

Emploi de la chaleur solaire. — Il est pourtant un de ces moyens

sur lequel nous devons insister en terminant, parce qu'il va nous fournir une sorte de synthèse de l'ensemble de notions complexes qui interviennent dans les questions de chauffage et de maturation du vin, c'est l'emploi de la chaleur solaire.

Rien n'est plus facile, on le sait, que de porter la chaleur au delà de 100° sous des vitrages clos exposés au soleil de nos climats. On pourrait donc se servir de serres à simple ou double enveloppe pour chauffer du vin en bouteilles ou même en fûts. Les résultats seraient absolument les mêmes que dans le chauffage artificiel. L'oxydation serait pourtant à craindre pour la matière colorante, mais en l'évitant avec soin, il n'y aurait à peu près rien à redouter de l'action de la lumière envisagée en elle-même.

Il en est tout autrement si l'air intervient, et pour mettre tout de suite en jeu toutes les influences qui peuvent jouer un rôle, imaginons que nous placions dans une bonbonne de verre du vin naturel, viné ou non viné, additionné ou non de vin doux et de sucre. Laissons dans la bonbonne une certaine quantité d'air, le tiers, le quart, le cinquième du volume du liquide, et exposons le tout au soleil, après avoir bien bouché le flacon.

On pourrait croire, au premier abord, que le vin ainsi traité va se couvrir de fleurs, s'aigrir ou bien se mettre à fermenter s'il contient du sucre, et faire éclater la bonbonne. Une expérience séculaire apprend en effet que pour conserver un vin, il faut le maintenir en vases pleins et dans des caves fraîches. Nous faisons tout le contraire, et pourtant, le vin de la bonbonne ne s'aigrit pas et ne devient pas malade. Bien mieux, il vieillit, se dépouille de sa matière colorante, son bouquet se développe, et si le volume de l'air était, par rapport à celui du liquide, dans une proportion convenable que l'expérience apprendrait bien vite à trouver, le vin peut acquérir en quelques jours, non pas peut-être dans toute leur plénitude, mais à un degré très sensible, les qualités de vin vieux.

C'est que les rayons solaires, s'accumulant dans la bonbonne au travers des parois de verre, en ont dès le premier jour élevé la température intérieure, surtout dans l'air, au-dessus de 55 ou 60°. Les germes des mycodermes sont donc tués, les fleurs et l'acétification deviennent impossibles. Les germes des autres végétations parasites ne résistent pas non plus, soit que la température du vin atteigne un jour le degré voulu, soit qu'un long séjour dans un liquide tiède et aéré les oxyde et les paralyse. En même temps, et aussi sous l'influence du soleil, l'action chimique s'accélère, un abondant dépôt de matière colorante se produit, d'autres principes s'oxydent. Le goût change, le vin s'évente et se perd s'il y a trop d'air; il reste dépouillé et très bon, s'il n'a pas eu à absorber trop d'oxygène. On utilise donc ainsi dans un même vase, mais pour ainsi dire successivement, l'action calorifique et l'action chimique des rayons solaires.

Mais on comprend pourquoi nous avons pris un vase de verre. Avec la paroi de bois d'un tonneau, tout peut changer. La chaleur ne pénètre plus, les germes persistent, et l'oxygène, au lieu de servir à la maturation, peut ne servir qu'à l'acétification. Il faudrait, pour éviter ces chances de perte, avoir affaire à un vin très alcoolique, viné par exemple. On se rapproche alors des pratiques de Cette, où l'on réussit, en effet, à vieillir les vins et à leur donner du bouquet

en les exposant en tonneaux à l'action de la chaleur solaire. Mais à Cette, le soleil est un simple agent d'évaporation, activant, par les alternatives de chaleur et de froid, d'humectation et de desséchement des douves, le contact de l'oxygène et du vin. Ce contact même, on est obligé de le ménager, par conséquent d'aller avec lenteur. De plus, il faut constamment se défendre, par des vinages convenablement espacés, contre les pertes d'alcool par évaporation, qui augmentent les chances de développement des êtres microscopiques. Avec la substitution de la bonbonne au tonneau, le vin peut vieillir en quelques jours, et de façon à devenir plus tard inaltérable. Cette expérience n'a pas pour seul intérêt de réunir toutes les notions que M. Pasteur nous a fait acquérir sur les causes qui améliorent les vins et les causes qui les détruisent. On ne peut s'empêcher de croire qu'elle peut devenir l'origine de perfectionnements considérables dans la fabrication des vins d'imitation. Puisque la crise vinicole en France nous amène à ne pouvoir guère exiger, comme vins de consommation courante, que des imitations de vins, un intelligent emploi de la chaleur solaire, dans les conditions que nous venons d'indiquer, pourrait peut-être donner aux produits qu'on obtient aujourd'hui des qualités de goût qui les amélioreraient sans beaucoup en augmenter le prix.

BIBLIOGRAPHIE

Pasteur. — *Études sur le vin.*

Duclaux. — Recherches sur les vins. *Ann. de chim. et de phys.*, 5e sér., t. III, 1874.

E. Ludwig. — *Journal f. prakt. Chemie,* t. CIII, p. 46, 1868.

A. Henninger. — Sur la présence d'un glycol dans le vin. *Comptes rendus*, t. XCV, p. 94, 1882.

CHAPITRE LVI

FERMENTS DES MATIÈRES GRASSES

Dans les êtres déjà nombreux que nous avons passés en revue, nous n'en avons pas encore rencontré qui s'attaquent directement aux matières grasses et les fassent fermenter à la façon du sucre et de l'amidon. Alors même qu'une fermentation régulière, alcoolique ou autre, s'accomplit en présence des corps gras, on retrouve ceux-ci à peu prés inaltérés dans leur poids et leur constitution. Leur résistance à l'action des ferments est en effet plus grande que celle de l'immense majorité des autres corps qui les accompagnent dans les animaux et dans les végétaux. Nous verrons bientôt que, même dans la putréfaction et dans la maturation des fromages, les substances grasses très finement divisées qui existent dans la masse échappent en presque totalité à l'action qui s'accomplit à côté d'elles.

Pourtant il est clair que les matières grasses doivent, comme les autres, parcourir dans toute son étendue le cycle de transformation qui les ramène à l'état d'eau et d'acide carbonique. Sans cela, elles s'accumuleraient dans la nature organique et immobiliseraient avec le temps une quantité énorme de matériaux. Le mécanisme de cette destruction est sans doute complexe, mais un de ses rouages importants a été vu pour la première fois par M. Van Tieghem et décrit par lui sous le nom de phénomènes de *vie dans l'huile.*

Mucédinées dans l'huile. — Si dans une huile quelconque non épurée, on introduit un corps quelconque imbibé d'eau, on voit, après quelques jours, la surface de ce corps se couvrir d'une abondante végétation. Ce sont des filaments serrés côte à côte et dressés perpendiculairement à la surface, où ils forment comme une sorte de gazon ou de velours épais de 1 à 2 centimètres, et dont la blancheur contraste avec la couleur ambrée du liquide. Au microscope, ces filaments se montrent diversement ramifiés, quelquefois continus, mais le plus souvent cloisonnés et çà et là anastomosés : ils offrent tous les caractères du mycélium des champignons.

Il y en a de plusieurs sortes, parfois entremêlés dans le même tapis. M. Van

Tieghem y a distingué divers mucors, notamment les *Mucor spinosus* et *pleurocystis*, ainsi que plusieurs ascomycètes, notamment un *Verticillium*, un *Chætomium*, un *Sterigmatocystis*. Mais l'espèce de beaucoup prédominante, qui forme souvent à elle seule le tapis tout entier, c'est le *Penicillium glaucum*. On en a la preuve en voyant naître sur les filaments, dans la profondeur même du liquide, les fructifications caractéristiques de cette plante. Les spores y prennent la couleur vert glauque qui leur est habituelle, mais le principe qui colore leur membrane, étant à la fois soluble dans l'huile et peu diffusible, forme une sorte de gaine nuageuse tout autour des chapelets de spores.

Cette fructification normale du *penicillium* au sein de l'huile a déjà de quoi surprendre, si l'on se rappelle que dans les solutions aqueuses où cette plante végète avec le plus de vigueur, elle ne fructifie jamais au sein du liquide, mais seulement à sa surface, au contact direct de l'air. D'autres ascomycètes forment dans l'huile, non seulement leurs conidies, mais encore leurs périthèces que l'on rencontre à tous les états dans les cultures : tel est notamment un petit *Chætomium* encore indéterminé.

Des huiles très diverses, végétales ou animales, même des suifs, mis en contact avec un corps de nature quelconque, solide ou liquide, donnent presque à coup sûr ces phénomènes, à une double condition pourtant, c'est que le corps ajouté à l'huile y apporte de l'humidité, et que l'huile n'ait subi aucun traitement qui ait pu la débarrasser des germes qu'elle doit naturellement renfermer. Une huile épurée par l'acide sulfurique, comme l'huile de colza, chauffée, comme l'huile de lin, cuite ou exprimée à chaud, comme l'huile de pied de mouton, ne laisse d'ordinaire se développer aucune végétation sur les corps poreux qu'on y plonge.

On comprend en effet sans peine, en songeant à l'origine et au mode d'extraction de la plupart des huiles, qu'elles doivent renfermer des germes de toutes les végétations que l'on peut rencontrer à la surface des fruits qui les fournissent. Ce sont elles qu'apportent les germes des végétaux que nous avons vus s'y développer. L'huile la plus féconde devient inactive quand on la chauffe à 160 ou 200°, et on rend inversement l'huile de colza toute pareille à ses congénères en y ajoutant des spores. L'apparition fréquente, que nous avons signalée, du *penicillium glaucum* est en rapport avec la diffusion de cette mucédinée dans la nature.

Rôle de l'eau. — Mais pourquoi ces spores ne se développent-elles pas dans l'huile abandonnée à elle-même ? Parce qu'il leur faut de l'eau pour germer, pour passer de leur vie latente à leur vie active, et que l'huile ne leur en offre pas. C'est à leur fournir de l'eau que se borne le rôle du corps poreux ou humide que nous avons été obligés d'introduire. Les spores en contact avec lui entrent en germination, et les filaments mycéliens en envahissent d'abord toute la surface, pour ensuite envoyer dans l'huile leurs branches fertiles et s'y couvrir de fructifications.

Cet apport d'eau du dehors ne semble du reste nécessaire que lorsqu'il s'agit de faire germer des spores. Un mycélium introduit dans l'huile lorsqu'il est en plein développement continue à y vivre, à y grandir et à y fructifier. Il se suffit

désormais à lui-même et n'a plus besoin de recevoir de l'eau de l'extérieur. Il est curieux de voir de près ce qui se produit dans ces conditions.

L'observation en est très facile si l'on transporte quelques filaments mycéliens au milieu d'une goutte d'huile placée sur le porte-objet du microscope, recouverte d'une lamelle et abandonnée à elle-même pendant un temps suffisant. « Après quelques jours, dit M. Van Tieghem, il s'est produit tout autour de l'îlot primitif un cercle régulier de filaments rayonnants et rameux, où l'on distingue nettement trois zones; la zone externe, où les tubes sont en voie de croissance et de ramification; la zone moyenne, plus compacte, où se développent les fructifications; enfin la zone interne, où les filaments sont très transparents, peu visibles, en voie de destruction. Ces cultures sur porte-objet dans l'huile permettent de suivre au microscope, jour par jour, la croissance dela plante, et pas à pas le développement de ses fructifications avec plus de facilité que par tout autre moyen. De plus, comme il n'y aucune évaporation, le milieu conserve une constance de composition qui assure au développement une remarquable homogénéité. C'est, pour certains organismes, une méthode de culture qui a d'autres avantages que celui d'être inattendue. Ici il n'y a pas eu d'eau introduite au début, la plante prise en voie de développement s'est suffi désormais à elle-même. Pour voir comment les choses se passent au point de vue de l'eau, il suffit de suivre attentivement un même filament depuis son sommet, à la périphérie, jusqu'à sa base, vers le centre de la culture. Toute la partie jeune a son protoplasma homogène et sa membrane uniformément mouillée par l'huile. En descendant, on voit le protoplasma des cellules se creuser de vacuoles pleines de suc cellulaire et de couleur rosée, d'abord très petites, qui vont grandissant à mesure qu'on s'éloigne du sommet. A partir du point où les vacuoles ont acquis un certain volume, on voit perler à la surface interne de la membrane de très fines gouttelettes d'eau, qui restent adhérentes au tube, auquel elles sont parfois attachées par un petit pédicelle : on dirait de petites cellules roses nées sur les flancs du tube par voie de bourgeonnement. A mesure qu'on descend vers une région plus âgée, ces goutelettes grandissent et en même temps il s'en forme de nouvelles entre les premières; pour ces deux causes, elles arrivent çà et là à se toucher, puis à se confondre, d'abord transversalement, en formant de petites bagues d'eau traversées par le tube, plus tard longitudinalement, en enveloppant la partie la plus âgée du tube dans une gaine continue. Dans cette région la plus âgée, les cellules du filament sont aussi presque complètement remplies d'eau, le protoplasma les a abandonnées; elles sont mortes ou peu s'en faut. En résumé, on voit par là que la plante forme directement, à l'intérieur de son protoplasma et aux dépens de l'hydrogène de l'huile, l'eau dont elle a besoin pour sa croissance, son eau de végétation ; plus tard, à mesure qu'elle vieillit, elle expulse à travers sa membrane une partie de l'eau ainsi produite. La végétation laisse donc finalement de l'eau dans l'huile, et cette eau s'y rassemble peu à peu et s'y accumule. »

La formation de cette eau n'a du reste pas de quoi surprendre. Nous allons voir, en effet, que les mucédinées ne perdent pas dans l'huile leur rôle d'agents de combustion. Elles doivent donc produire de l'eau et de l'acide carbonique. La seule différence avec la vie dans l'air, c'est que l'eau s'évapore facilement

dans un cas et est retenue dans l'autre, et le fait de la fructification, facile dans l'huile, et impossible dans l'eau, est peut-être en relation avec cet autre que les filaments fructifères sont des organes plus actifs de respiration et de combustion que les filaments mycéliens, et ne peuvent donner leur eau physiologique que dans un milieu d'où ce corps est à peu près totalement absent. C'est pour une raison analogue que les plantes productrices d'acide carbonique ne peuvent vivre dans un air où l'azote est remplacé par ce gaz.

Alimentation des mucédinées. — Nous avons dit que les mucédinées dans l'huile continuent à être des agents de combustion. Elles trouvent dans l'huile l'oxygène qui leur est nécessaire pour cela. L'huile tient en dissolution de l'oxygène et de l'azote qui s'en dégagent dans le vide. Les proportions de ces deux gaz sont à peu près les mêmes que dans l'air. Dans l'huile d'olives, M. Van Tieghem a trouvé 25 p. 100 d'oxygène et 75 p. 100 d'azote ; dans l'huile de lin, 23 p. 100 d'oxygène et 77 p. 100 d'azote.

L'oxygène de l'huile épuisé par la plante, il en dissout d'autre de l'extérieur, et si l'huile est dans un vase clos, muni d'un tube adducteur débouchant sous le mercure, on constate une absorption notable. Finalement toute trace d'oxygène a à peu près disparu à l'intérieur du flacon. Il est remarquable qu'à aucun moment de la végétation, pas plus lorsqu'elle s'accomplit à l'abri de l'air que lorsqu'elle se fait au contact de l'air, la plante ne se développe ni à la surface, ni dans le voisinage. Les filaments mycéliens ou fructifiés occupent le fond du flacon, s'y élèvent jusqu'à une certaine hauteur, mais n'arrivent jamais à moins d'un centimètre de la surface.

Quant aux matériaux solides ou liquides nécessaires à la respiration et à la multiplication de la plante, elle les trouve dans l'huile qui, surtout lorsqu'elle n'est pas épurée, renferme en quantités suffisantes des matières azotées et minérales. Celles-ci peuvent suffire à la rigueur. Mais ce que nous avons vu des actions destructives énergiques qu'exerce une plante une fois développée sur les matériaux amenés à son contact, nous autorise à penser que la matière grasse ne reste pas inaltérée en présence d'une plante douée d'une activité vitale aussi grande que le *penicillium glaucum*, alors même que ce *penicillium* ne se serait développé qu'aux dépens des matériaux azotés et minéraux rencontrés dans ce liquide. Il doit se produire des phénomènes analogues à la combustion de la cellulose que nous avons étudiée au chapitre XVII.

Ces phénomènes de combustion latérale ou même directe sont encore insuffisamment étudiés dans leur nature à propos de l'huile, mais ils ont une grande importance par les proportions qu'ils prennent, ainsi que nous allons le voir.

La végétation, même prolongée, du *penicillium glaucum* et d'autres *ascomycètes* analogues, laisse l'huile parfaitement limpide, et il semble d'abord qu'elle n'y amène aucune altération. Cependant on voit peu à peu se former çà et là, parmi les filaments mycéliens, des nodules d'un blanc mat, composés de fines aiguilles rayonnantes ; ils sont d'abord très petits, mais grossissent peu à peu jusqu'à atteindre 1 ou 2 millimètres de grandeur. C'est une cristallisation d'acides gras, indice assuré d'une saponification lente. Les moisissures jouissent donc de la propriété de saponifier les corps gras en s'y développant. Ce pouvoir saponi-

fiant varie, du reste, d'une plante à l'autre, et est plus grand dans le *chœtomium* signalé plus haut que dans le *penicillium.*

D'où provient ce pouvoir saponifiant que nous constatons. Est-il un simple effet de l'acidité que prend la liqueur sous l'influence de la plante? C'est ce que semblent indiquer les faits suivants :

Dans les cultures sur le porte-objet du microscope dont nous avons parlé plus haut, on voit des nodules microscopiques d'acides gras se déposer sur les filaments eux-mêmes, et non pas sur leur partie jeune, mais dans la région la plus âgée, là où le suc cellulaire a fait son apparition sous forme de vacuoles dans le protoplasma, et où des gouttelettes de ce suc ont commencé à perler sur la membrane enveloppante. On est tenté, par suite, de considérer la séparation des acides gras comme le résultat de l'action exercée sur les corps gras neutres de l'huile par ce liquide acide transsudé.

Autres espèces vivant dans l'huile. — La saponification produite par les mucédinées est d'ordinaire si faible qu'on a le droit de la rapporter à la cause que nous venons de signaler. Mais elle est bien plus complète avec d'autres espèces, et semble avoir dès lors une origine différente.

M. Van Tieghem a cultivé par exemple, dans l'huile d'olive et d'œillette, une levure analogue à la levure de bière, mais plus petite, qu'il a nommée *Saccharomyces olei.* Elle se développe dans toute l'étendue du liquide, sans venir jusqu'à la surface, et le rend trouble et comme laiteux. Puis il s'y forme des grumeaux blancs à structure radiée ou des plaques écailleuses, qui rendent la masse pâteuse. A l'origine, un lavage à l'eau extrait de la glycérine. Plus tard, cette glycérine a disparu.

Qu'est-elle devenue? Il ne se dégage pas de gaz pendant le phénomène, et les produits de la réaction n'ont pas été étudiés. Il est pourtant probable qu'elle est consommée par le *saccharomyces* et, dès lors, on ne peut se défendre de l'idée que c'est pour se la procurer que cette levure a décomposé et saponifié l'huile. Le procès serait alors tout à fait analogue à celui de l'aspergillus décomposant le tannin pour en consommer le glucose. Remarquons que la saponification d'un corps gras se fait par adjonction d'un certain nombre d'équivalents d'eau, e peut dès lors théoriquement ressortir du domaine de l'action des diastases. Pourtant, ici aussi, le liquide devient acide, et la saponification pourrait être aussi expliquée, bien que plus difficilement, par l'action de l'acidité.

Voici enfin un dernier cas dont l'étude va nous ramener à l'une des idées que nous avons émises plus haut. M. Van Tieghem a observé et cultivé dans l'huile de ricin une monère qui se développe aussi dans toute la profondeur du liquide, qu'elle rend opalin. Les petites masses protoplasmiques dépourvues de membrane qui constituent cet organisme, se meuvent lentement dans l'huile en poussant des prolongements dans divers sens à la façon des amibes; elles se multiplient par bi-partition. Ici, l'huile ne se saponifie pas, même après un long séjour. D'un autre côté, ce qu'on sait des monères les éloigne des ferments. La notre semble se développer uniquement aux dépens des matériaux azotés présents dans l'huile. Dès lors, on a le droit de penser qu'il en est de même pour les mucédinées et le *saccharomyces olei*, et que les actions saponifintes variées de

ces espèces vivantes sont des actions latérales, dues à l'attaque tantôt facile, tantôt difficile, des corps gras par un être développé aux dépens des matériaux azotés que toutes les huiles renferment.

BIBLIOGRAPHIE

VAN TIEGHEM. — Sur la vie dans l'huile. *Bull. de la Soc. Bot. de France*. 1881.

CHAPITRE LVII

FERMENTS DES MATIÈRES ALBUMINOÏDES

Les matières albuminoïdes, dont la suite logique de notre exposé nous amène maintenant à aborder l'étude, sont loin d'être des individualités chimiques aussi bien définies que les substances que nous avons envisagées jusqu'ici. Rien de plus obscur et de plus confus que leur histoire. Il n'en est aucune qui ait une formule bien définie, aucune même à laquelle on puisse assigner des caractères physiques ou chimiques certains. Les réactions qui servent à les distinguer les unes des autres ont un caractère contingent qui leur enlève la plus grande partie de leur signification. Ces réactions dépendent de la température, des matières solides, liquides ou gazeuses, présentes en solution dans le liquide, dans une proportion bien plus grande qu'avec les autres composés de la chimie organique. Il n'est pour ainsi dire pas de réactif qui ne puisse servir à établir un classement spécial, classement qui aurait son importance, s'il n'était pas en contradiction avec les autres, et s'il n'était pas troublé lui-même par les causes d'erreur auxquelles ils viennent tous se heurter. Quand on voit, comme nous l'avons vu au chapitre XIII, $\frac{1}{10000}$ de chlorure de calcium influencer fortement la réaction la plus caractéristique de la caséine, sa précipitation par la présure, mieux que cela, quand on voit la caséine passer de l'état où elle se trouve dans le lait à l'état solide, sous l'influence d'une dose de présure qui ne dépasse pas $\frac{1}{600000}$ de son poids, il est difficile de ne pas croire que les phénomènes de précipitation ou de redissolution qui entrent dans la liste des propriétés de chaque matière albuminoïde, sont fonction de trop de circonstances inconnues pour être de sûrs moyens de distinction. En s'attachant à ces réactions, on est conduit à multiplier presque indéfiniment le nombre des matières albuminoïdes. Une étude bien faite des conditions qui les influencent conduirait au contraire, sans doute, à beaucoup réduire le nombre des espèces, et c'est de ce côté, plutôt que du côté de l'examen attentif des termes de dédoublement, qu'on est fondé, malgré les intéressants travaux de M. Schutzemberger à espérer quelques lumières sur les ressemblances ou les différences entre les types que la science accepte maintenant.

Nous n'avons pas heureusement à nous prononcer snr le nombre et la nature de ces types. Au point de vue de la chimie biologique, nous n'avons à nous poser, à propos de chaque matière albuminoïde que nous rencontrons dans la nature, que les questions suivantes. Est-elle assimilable ou ne l'est-elle pas? Si elle l'est, pour quelles espèces, par quels moyens, et au prix de quelles transformations? Quels sont les agents de ces transformations, dans quelles circonstances se produisent-elles, et quels sont les produits qui les accompagnent? On voit que toutes ces questions et toutes celles qui s'y rattachent sont celles que doit aborder et résoudre toute étude bien faite des relations d'une matière quelconque avec les ferments qui tentent de s'y implanter.

Je me suis trouvé avoir l'occasion et le devoir de commencer ce travail pour la caséine. Je l'avais entrepris avec la pensée qu'une fois fait, dans, un certain nombre de cas particuliers et bien définis, pour une matière albuminoïde quelconque, il pourrait servir à éclairer les phénomènes qui se produisent avec les autres matières protéiques. C'est dans ce sens qu'il faut prendre les faits consignés dans ce chapitre et dans le suivant. Tous les êtres que je décris n'ont par eux-mêmes aucune importance; il serait difficile de leur attribuer un phénomène où ils interviennent seuls. Le monde des ferments des matières albuminoïdes semble infiniment plus peuplé que celui des substances hydrocarbonées, et les faits de suppléance réciproque, rares ailleurs, se multiplient ici. Il n'y a, pour ainsi dire, aucune transformation qui ne puisse être réalisée concurremment et de la même façon par une ou plusieurs espèces, et c'est là évidemment une grande difficulté de plus pour l'étude, et en même temps, une cause d'infériorité marquée dans la valeur des résultats. Malgré le caractère à la fois difficile et ingrat du travail, j'espère pourtant être arrivé à quelques conclusions intéressantes que j'aurai à développer quand j'aurai passé en revue les espèces étudiées.

Tyrothrix tenuis (fig. 103, 4). — Ensemencé dans du lait exposé en grande surface à l'air, ce microbe se développe sous la forme de petits bâtonnets grêles assez régulièrement cylindriques, très légèrement granuleux dans leur intérieur, ayant environ $0^{\mu},6$ de largeur, et une longueur variable qui peut descendre jusqu'à 3^{μ}. Sous cette dernière longueur. on croirait avoir sous les yeux une bactérie, et une nouvelle ressemblance résulte de l'étude des mouvements, qui chez les bâtonnets les plus courts, est rapide, sans ondulations, et trépidant comme celui des bactéries.

Quand le bâtonnet s'allonge sans se segmenter, ce qu'il fait de préférence lorsque la température est basse et que l'air lui manque un peu, il prend au contraire le mouvement onduleux et doux de la famille des vibrions. Quand il se segmente, on observe fréquemment un coude sur la ligne de jonction, et l'infusoire se meut en conservant ses courbures et une sorte de rigidité, avec des mouvements d'ensemble qui consistent en une sorte de balancement, compliqué d'un mouvement de rotation irrégulier.

Lorsque plusieurs articles sont réunis en chaînes, ils se meuvent encore, mais d'un mouvement plus saccadé et plus lent, qui cesse complètement lorsque la chaîne est un peu longue.

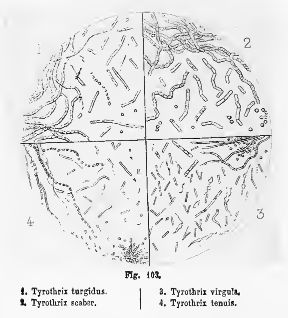


Fig. 103.

1. Tyrothrix turgidus.
2. Tyrothrix scaber.
3. Tyrothrix virgula.
4. Tyrothrix tenuis.

Le bâtonnet peut aussi s'allonger beaucoup sans se segmenter, et donner des fils dont la longueur égale deux à trois mille fois la largeur. Il est alors immobile. Lorsque la température est basse et le liquide un peu acide, ces fils ne se cloisonnent que lentement; s'il fait plus chaud, on les voit se diviser peu à peu en articles qui restent lâchement unis, avec géniculations aux points de suture. Dans le bouillon Liebig, ces fils flottent à l'intérieur du liquide et donnent en quelques heures des flocons visibles à l'œil nu. Dans le lait, c'est à la surface qu'ils s'étalent de préférence. Il y forment en s'enchevêtrant une pellicule plissée qui n'est jamais très solide, car d'abord la division en articles y est prompte, puis dans chacun des articles prend naissance une spore, qui apparaît d'abord comme une petite masse ovoïdale un peu renflée, et s'isole ensuite par résorption du tissu environnant. La pellicule feutrée de l'origine devient alors un semis d'innombrables spores.

Pendant que ces phénomènes s'accomplissent, le lait subit des modifications remarquables. Le premier effet est une coagulation. Puis le coagulum, bien plus mou que celui que donne la présure de veau, se redissout peu à peu, en commençant par les couches supérieures, et se transforme en un liquide opalescent, renfermant la caséine transformée que nous avons appris à connaître au chapitre IX.

Ce microbe sécrète donc de la présure et de la caséase, et, ainsi qu'il arrive toujours en pareil cas, il est difficile d'indiquer par un chiffre la force coagulante du liquide où il a vécu. Quand la présure est seule, comme dans l'estomac du veau, il y a, entre les quantités de présure employée et les temps de coagulation, une relation inverse qui nous a servi à évaluer la force d'une présure. Avec les liquides renfermant à la fois de la présure et de la caséase,

cette relation n'existe plus, parce qu'il y a superposition de deux effets, qui se produisent avec des vitesses inégales et qui se contrarient.

Voici, pour fixer les idées sur ce fait que nous rencontrerons souvent, les résultats d'une expérience. Le microbe, cultivé dans du lait en grande surface et avec la quantité d'air nécessaire, a donné un liquide dont on a essayé le pouvoir coagulant en le mélangeant avec 30, 40, 60 et 120 fois son poids de lait. La durée de la coagulation a été, dans ces divers cas, de 11, 18, 31 minutes. Avec 120 volumes de lait, la coagulation n'était pas encore faite après 2 heures. En appliquant à ces nombres la règle posée au chapitre XII, pour trouver le pouvoir coagulant, on trouve les nombres 120, 100, 90, et enfin un chiffre inférieur à 45. Avec de la présure de veau, on aurait trouvé des nombres très voisins. Les irrégularités tiennent ici à ce que la dilution affaiblit beaucoup plus les propriétés de la présure que celle de la caséase sécrétée par notre microbe.

Si l'on diminue la proportion de lait mis en contact avec le liquide qui a nourri le microbe, le caséum très dilué ne reste pas cohérent, il devient mou et gélatineux. Quand le poids du lait est réduit à 5 fois le poids du liquide à diastase, la coagulation ne se fait plus, la teinte du mélange devient de moins en moins blanche et disparaît bientôt. La caséine est alors devenue identique à celle sur laquelle le microbe a agi directement. Avec des volumes égaux de liquide ou de lait, la transformation, la digestion de la caséine dure 15 minutes; elle en dure 45 avec 2 volumes de lait pour 1 de liquide, 1 heure 30 minutes avec 3 volumes de lait, et 5 heures avec 4 volumes de lait pour 1 de liquide.

On observe des résultats analogues, lorsqu'au lieu de faire agir le liquide même où a vécu le ferment, on commence par isoler au moyen de l'alcool les diastases qu'il renferme. Mais il n'y a guère d'avantage à employer ce moyen. Pour peu que le milieu nutritif où l'on cultive le microbe soit propre à son développement, il devient d'ordinaire très riche en diastase, et si nous avons placé cette espèce la première, c'est précisément parce qu'elle est plus active sous ce rapport que celles que nous rencontrerons bientôt.

Le lait convient mieux que le bouillon Liebig comme terrain de culture, et c'est lui qu'on devra préférer. Il faut y laisser vieillir quelques jours le microbe, sans pourtant attendre trop longtemps, les diastases y disparaissant avec le temps, même lorsque par une filtration au travers d'un diaphragme poreux, on les débarrasse de tout être vivant. Il y a là sans doute en jeu un phénomène d'oxydation.

Le liquide en vieillissant devient un peu gélatineux. Nous avons déjà été témoins de ce phénomène, qui est assez général, et a des causes diverses. Je crois qu'il faut surtout l'attribuer ici à la production, aux dépens de la matière albuminoïde, d'une sorte de gélatine qui empâte le tout. Quoi qu'il en soit, c'est au moment où cette gélatinisation commence que le liquide est le plus riche en diastases, et qu'il faut le précipiter par l'alcool quand on veut en séparer les diastases qu'il contient. C'est encore à ce moment que la caséase est proportionnellement le plus abondante, et peut même exister seule, la présure ayant disparu.

En introduisant maintenant dans du lait cette caséase isolée par l'alcool, on peut étudier les produits de son action sur la caséine. Le lait où elle a épuisé

son action louchit un peu par la chaleur, mais sans donner de précipité sensible. Il a conservé sa réaction, acide au papier bleu, alcaline au papier rouge. Si on l'acidule par l'acide acétique, il précipite encore à froid, et un peu plus à chaud. Mais on ne retire pas ainsi plus d'un demi-centième de la matière albuminoïde. Le reste est devenu soluble dans les acides et dans les bases étendues, et jouit, comme nous l'avons vu, des propriétés des peptones.

Ces produits de la transformation de la caséine existent naturellement, en plus ou moins grande abondance, dans tous les liquides où a vécu le microbe; mais une portion en est toujours détruite, par suite de la vie et des besoins nutritifs de l'infusoire qui y vit. Bientôt, le liquide ne précipite plus par les acides étendus, et très faiblement par l'alcool. En revanche, il précipite maintenant par l'eau de baryte, tandis qu'auparavant il donnait à peine un louche. L'eau de chaux ne produit aucun effet ni à froid, ni à chaud. Le ferrocyanure ne donne rien, même en présence de l'acide acétique. Le sulfate de cuivre, le bichlorure de mercure donnent des précipités floconneux, augmentant beaucoup à l'ébullition.

On voit par là que la matière organique initiale s'est rapprochée, sous l'action de la vie du microbe, du groupe des matières extractives. Une portion est plus avancée dans la voie de la décomposition. On trouve en effet dans le liquide de la leucine, de la tyrosine, témoins ordinaires de la destruction de la matière azotée; il y a en outre, comme toujours en pareil cas, un sel d'ammoniaque dont l'acide, appartenant en général à la série des acides gras, fournit un des caractères les plus distinctifs de l'être qui l'a produit. C'est, avec le *tyrothrix tenuis*, le valérianate d'ammoniaque. Enfin il y a toujours aussi un peu de carbonate d'ammoniaque.

La transformation de la matière organique est du reste d'autant plus avancée que la vie du microbe a été plus facile, et que l'air a eu un plus facile accès. Le *tyrothrix tenuis* ne se développe pas dans l'acide carbonique pur; mais si peu que ce gaz soit mélangé d'oxygène, on assiste à un commencement de développement. Si ce lait ensemencé est enfermé dans un tube, c'est à la surface seulement que le microbe se développe, dans la mesure dans laquelle l'air lui arrive; l'être est donc surtout aérobie.

Mais pendant que le microbe est ainsi à la surface, ses diastases pénètrent par voie de diffusion dans la masse jusqu'à une grande profondeur, la coagulent, puis redissolvent le coagulum sur leur parcours, en en faisant un liquide jaunâtre. L'ensemble du phénomène rappelle tout à fait la maturation centripète des diverses couches d'un fromage à la surface duquel vivent des microbes ou des mucédinées. C'est naturellement aussi dans ces conditions que les produits de l'action du ferment soluble dominent, et que ceux qui dérivent de la nutrition du microbe sont en plus petite quantité.

Avec le lait, le sucre de lait est toujours respecté. Le microbe n'attaque pas non plus la glycérine, le lactate de chaux ou le glucose. Il vit péniblement dans l'urine. Il vit plus péniblement dans le petit-lait que dans le lait.

Il se développe en revanche assez facilement dans de la caséine précipitée, qu'on a remise en suspension dans de l'eau additionnée de sels minéraux. Il la redissout et la transforme. Il conserve plus volontiers dans ce milieu la forme

de longs fils, qui se segmentent moins qu'ailleurs, et se remplissent après quarante-huit heures de chapelets de spores.

La redissolution de la caséine est évidemment due ici à l'influence de la caséase, et c'est pour cela que je lui ai donné ce nom. Je reconnais pourtant qu'il n'est pas typique, car cette même caséase peut, je m'en suis assuré, redissoudre aussi la fibrine et l'albumine coagulée. Mais elle dissout la caséine mieux que toute autre matière albuminoïde. Elle est sans action sur l'urée, qu'elle ne transforme pas en carbonate d'ammoniaque. Elle n'intervient pas non plus sur le sucre. Elle a donc une individualité propre que le nom que nous lui avons donné traduit en partie. On peut le lui conserver jusqu'au moment où l'on pourra lui en trouver un meilleur.

La résistance à la chaleur du *tyrothrix tenuis* est remarquable. Lorsqu'il est chauffé tout jeune, dès les premières heures de son développement, et dans un liquide neutre, il ne périt qu'entre 90 et 95° ; au bout de 24 heures, le liquide étant devenu faiblement alcalin, il peut dépasser 100° sans mourir. Tout ceci est relatif à son état adulte. Quand il est en spores bien formées, et qu'on le chauffe dans un liquide un peu alcalin, il est encore vivant à 115°. C'est aux températures comprises entre 25 et 35° que son développement est le plus rapide.

Tyrothrix filiformis (fig. 104, 3). — Ce microbe est encore un aérobie et ne se développe pas dans l'acide carbonique pur. Il vit très bien dans le lait. Il s'y présente à l'origine sous la forme de bâtonnets courts, de $0^{\mu},8$ de diamètre, s'avançant avec une sorte de mouvement lent et sans ondulations sensibles. Lorsqu'il se segmente, ce qui se fait quelquefois sans augmentation notable dans la longueur, la chaîne d'articles se meut d'un mouvement balancé, presque onduleux, et on serait d'autant plus tenté d'attribuer à la souplesse du corps du microbe ce qui est seulement l'effet du cloisonnement qu'il a subi, que ce cloisonnement, sur des êtres aussi ténus, est presque invisible. Les articles de ces chaînes s'allongent quelquefois sans se séparer, se tordent alors sur leurs articulations, et l'ensemble possède un mouvement irrégulier d'autant plus lent que la chaîne est plus longue.

Comme tous les êtres aérobies, celui-ci peut se développer à la surface du liquide, quelquefois dès l'origine, quelquefois après avoir pullulé à l'intérieur. On le trouve alors sous forme de longs fils un peu plus ténus que ceux qui vivent dans la profondeur, et qu'un cloisonnement, toujours très peu apparent, finit par transformer en chaînes d'articles plus ou moins coudés sur leurs articulations. C'est toujours dans ces articles superficiels que commence la formation des spores. On les voit naître sous la forme d'une petite granulation imperceptible, qui grossit en renflant le corps du bâtonnet en l'un de ses points, de préférence à une extrémité, de sorte que quand la spore est formée, elle a à peu près le double en diamètre du filament qui lui a donné naissance, et elle donne à celui-ci la forme d'un fuseau ou d'une masse d'armes.

Suivant la façon dont il se développe, ce microbe manifeste sa présence dans le lait par des effets très différents. Tantôt le lait se couvre, dès le lendemain de l'ensemencement, d'une pellicule plissée, formée d'un feutrage de fils du

microbe et de globules gras, le tout empâté de caséine précipitée. Cette pellicule ne saurait mieux être comparée qu'à la couche de frangipane qui se forme sur le lait maintenu à la chaleur. Tantôt le développement, au lieu d'être superficiel, se fait sous forme de fils isolés, ou d'enchevêtrements compliqués flottant à l'intérieur du liquide.

Voilà pour le microbe. Quant au lait, il reste quelquefois deux ou trois jours intact en apparence, et on n'y voit même pas au microscope le précipité granuleux et fin qui annonce un commencement de coagulation. Il conserve son opacité et sa liquidité. Puis, presque subitement, ou au moins en quelques heures, on le voit se décolorer et se transformer en un liquide un peu louche. D'autres fois, il y a coagulation, mais le coagulum ne persiste pas et se dissout à son tour, à moins qu'il n'ait pris de la cohérence sous l'action d'une température trop élevée. Dans ce cas, il persiste plus ou moins longtemps.

Le *tyrothrix filiformis* semble donc n'avoir ni des propriétés coagulantes, ni des propriétés digestives bien énergiques. Cette idée est confirmée par l'étude de la présure qui, prise dans du bouillon Liebig où a vécu le microbe, donne, dans les mêmes conditions de mesure que pour le *tyrothrix tenuis*, des chiffres variant de 80 comme maximum à 15 comme minimum. Mais la caséase semble proportionnellement un peu plus active. Une culture du microbe, faite dans du bouillon Liebig mélangé à son volume de lait, l'avait décoloré en une heure. Tous ces chiffres sont inférieurs, comme on voit, aux chiffres correspondan du *tyrothrix tenuis*.

Aussi s'explique-t-on très bien que la présence de cet être dans le lait puisse ne s'accompagner pendant quelques jours d'aucune transformation apparente, puis que la décoloration du lait s'accomplisse en quelques heures, lorsque la quantité d'êtres vivants et le temps de l'action sont devenus assez grands.

La peptone résultant de l'action de la diastase sur la caséine reste dans le liquide unie aux produits de l'activité vitale du microbe, c'est-à-dire aux produits de décomposition de la portion de caséine dont on peut dire qu'elle a fermenté. On y trouve, comme à l'ordinaire, de la leucine, de la tyrosine, de l'urée, du carbonate d'ammoniaque. Il y a, en outre, un mélange, à équivalents à peu près égaux, d'acétate et de valérianate d'ammoniaque. Quant à la matière albuminoïde complexe et non cristallisable qu'on trouve en solution dans le liquide, elle jouit des propriétés suivantes. Elle ne précipite pas à l'ébullition, même en présence de l'acide acétique. Avec le ferrocyanure de potassium, il y a trouble très léger dans une solution acide ; de même avec le sulfate de cuivre. Le tannin et le bichlorure de mercure donnent d'abondants précipités. L'eau de chaux donne un louche faible, l'alcool ne donne aucun précipité.

Le lait n'est pas la seule substance qui puisse servir à la nutrition de ces petits êtres. Ensemencés dans du bouillon Liebig, ils troublent en quelques heures le liquide en le peuplant, soit d'articles isolés et mobiles, soit de chaînes articulées à mouvements plus lents, soit même d'enchevêtrements flottants tout à fait immobiles. Puis prend naissance à la surface une couche d'abord presque immobile, qui épaissit et blanchit de plus en plus, finit par recouvrir le liquide d'un voile velouté, et tapisse même la paroi intérieure du vase jusqu'à une assez grande hauteur au-dessus de la surface du liquide. Ce voile, relevé le long des

parois, se nourrit évidemment des petites portions de liquide qui s'élèvent par capillarité entre le verre et la couche demi-solide qui le recouvre. Tout cela témoigne que le bouillon Liebig est un aliment très favorable. Quand la masse alimentaire qu'il renferme est épuisée, ce qui arrive vite avec une végétation aussi active, le voile superficiel se disloque par suite de la formation des spores et perd bientôt toute solidité. Il se détache des parois, tombe dans le liquide et y forme un dépôt visible, formé d'innombrables spores.

Dans la gélatine, il ne se forme pas de pellicule superficielle. On trouve dans le liquide des filaments en flocons formés d'articles lâchement unis sur leurs articulations, formant des chaînes plus ou moins brisées qui se disloquent de plus en plus et donnent de bonne heure des spores. La formation rapide de celles-ci peut tenir, comme on voit, à deux causes, soit à ce que les conditions sont très favorables et à ce que les microbes qui se multiplient beaucoup ont rapidement absorbé les aliments offerts, soit à ce que les aliments manquent dès l'origine. On voit tout de suite, par la forme et la puissance du développement, à quel cas on a affaire. Avec la gélatine, il n'y a pas de doute. Elle n'est qu'un aliment médiocre et insuffisant. Cependant, elle est transformée, car lors que l'action du filament est épuisée, elle ne précipite plus par le tannin, ou du moins ne donne avec lui qu'un louche très faible.

Ce microbe paraît être uniquement un ferment des matières albuminoïdes quand il vit dans le lait, et ne semble pas toucher au sucre de lait. Je dis *semble*, parce que quand on étudie au moyen de la liqueur de Fehling la teneur en sucre d'un lait où a vécu ce ferment, il y a, à la fin de la réaction, une couleur rouge qui empêche de saisir le moment où le liquide est décoloré. Cependant j'ai trouvé le même chiffre en étudiant dans les mêmes conditions du lait resté un an en présence du microbe, et du lait n'ayant subi son action que pendant quelques jours. Ceci fait croire que le *tyrothrix filiformis* ne s'attaque pas au sucre de lait ; il respecte de même la glycérine.

Les spores, quand on les chauffe lentement à des températures croissantes, meurent avant 110° quand elles proviennent de la gélatine, et résistent à 120° quand elles proviennent du lait, qui est toujours un peu plus alcalin que l'autre liqueur. Pour les adultes, ils meurent lorsqu'ils sont chauffés pendant une minute à 100° dans une liqueur acide. Dans du lait, ils résistent à l'action d'une température de 100°.

Tyrothrix distortus. — Cultivé dans du lait et au contact de l'air, ce microbe donne des bâtonnets granuleux ayant environ $0^{\mu},9$, et dont la longueur est de 5 à 10 fois la largeur. Ces bâtonnets se meuvent, lorsqu'ils sont isolés, avec des mouvements vifs et un peu flexueux. Lorsqu'ils sont en chaînes de 4 ou 5 articles, le mouvement est plus lourd et plus lent ; il disparaît tout à fait quand les chaînes sont plus longues.

Il est aussi plus rapide et plus général à l'origine, lorsque le microbe est jeune et le lait encore bien liquide. Mais bientôt le lait devient un peu visqueux par suite d'un fin précipité de caséum. Ce précipité augmente sans devenir cohérent et se réunit à la partie inférieure du liquide, laissant au-dessus de lui un liquide séreux presque décoloré. C'est alors dans ce liquide que les

mouvements persistent. La masse du caillé se feutre, pour ainsi dire, de longs filaments immobiles dont les segmentations sont, à l'origine, très espacées et très peu visibles; ces filaments liquéfient peu à peu le caséum autour d'eux. En même temps, leurs segmentations se multiplient, ou au moins deviennent plus visibles parce qu'elles deviennent plus lâches, tellement que le long filament se partage en articles qui semblent distincts et indépendants, parce qu'à chaque point d'articulation, ils s'inclinent les uns sur les autres d'un angle variable, quelquefois très marqué.

A ce moment, le liquide est incolore et a la fluidité du petit-lait. Il se colore peu à peu, puis devient gélatineux, et arrive à ressembler, comme consistance et comme couleur, à de la gelée de viande. Les articles du microbe sont alors plus ou moins transformés. Quelques-uns ont avorté sans donner de spores. Les contours de ceux-ci sont comme gonflés, ils sont à peine apparents. On les devine plus qu'on ne les voit, dans les enchevêtrements gélatiniformes dans lesquels ils sont presque confondus. Une autre portion des filaments du *tyrothrix distortus* a donné des spores sur lesquelles nous allons revenir.

Les détails dans lesquels nous venons d'entrer témoignent que le microbe ne sécrète pas une présure bien énergique. Sa caséase semble un peu plus active, mais ni l'une ni l'autre diastase ne se développent beaucoup dans le lait. On en obtient davantage en faisant vivre le microbe dans du bouillon Liebig ou de la gélatine. Après la culture, ces liquides peuvent décolorer du lait après coagulation préalable, si la température est élevée, sans coagulation, si la température est voisine de 15 à 20 degrés. La caséine transformée sous l'action de cette diastase résiste à l'action de la chaleur. Elle ne précipite pas par l'eau de baryte, ni par le ferrocyanure de potassium· Elle précipite par ce même ferrocyanure additionné d'acide acétique, par le tannin et par le bichlorure de mercure. L'addition d'une goutte d'acide n'y détermine qu'un louche léger, d'autant plus faible qu'on a laissé à la transformation plus de temps pour s'accomplir.

Cette caséine peptonisée sert en partie au procès vital du microbe, et subit alors une modification qui en change les propriétés. L'acide acétique et le tannin sont devenus tout à fait sans action, le bichlorure donne seulement un précipité très faible. En outre, ce liquide renferme des termes plus avancés de décomposition, de la leucine, de la tyrosine, un mélange de valérianate et d'acétate d'ammoniaque où le premier sel prédomine, et enfin du carbonate d'ammoniaque qui le rend assez fortement alcalin. La nature des sels ammoniacaux pourrait permettre de confondre le *tyrothrix distortus* avec le *tyrothix filiformis* étudié plus haut, mais la grosseur des bâtonnets et leur mode de développement fournissent des caractères distinctifs suffisants.

Il se distingue du *tyrothrix geniculatus* que nous allons rencontrer tout à l'heure, et auquel on pourrait être tenté de l'assimiler, par un caractère surtout très développé qnand on cultive les deux êtres dans du bouillon Liebig. Le *tyrothrix distortus* est mobile, surtout à l'origine : le *tyrothrix geniculatus* est toujours immobile. Le premier a d'ailleurs une ténuité un peu plus grande, et à toutes les époques de la vie, un caractère granuleux plus marqué. Néanmoins, les ressemblances entre tous ces êtres sont assez grandes pour que j'aie cru inutile de faire dessiner à part le *tyrothrix distortus*, qui est intermé-

diaire entre le *tyrothrix turgidus* de la fig. 103 et le *tyrothrix filiformis* de la fig. 104.

Dans ce bouillon Liebig, la formation des spores du tyrothrix est très active, et on les trouve sous deux aspects assez différents. Ce sont d'abord des rangées de spores bien caractérisées comme telles, oblongues, très réfringentes, en file à l'intérieur d'un filament dont les contours sont plus ou moins étranglés entre les spores, et plus ou moins avancés dans leur voie de disparition. Celles-là apparaissent de préférence dans les longs filaments. Dans les articles plus courts, isolés ou par paires, on voit se former en un point de la longueur une granulation plus grosse et plus régulière que celles qui remplissent le corps du microbe, presque ronde, occupant sans le renfler toute la largeur du bâtonnet, moins réfringente, et à contours plus fins que les spores décrites plus haut. Elle finit par rester seule à l'intérieur de l'article, toutes les autres granulations ayant disparu. Puis elle s'isole par résorption du sac qui la contient. Dans d'autres articles, chez lesquels se forment ces mêmes spores rondes, il se produit des torsions et des coudes brusques qui produisent des enchevêtrements très irréguliers. On observe dans le lait les mêmes phénomènes un peu moins marqués. Le bouillon Liebig, primitivement acide, devient alcalin; mais sa constitution est si peu connue qu'il est impossible de suivre les transformations que subit la matière albuminoïde.

Dans la gélatine, le développement est très rapide, et le liquide se peuple du jour au lendemain d'articles agiles et de fils plus ou moins longs, immobiles, qui finissent pas se segmenter en articles assez courts. Les spores apparaissent assez vite.

Enfin ce microbe se développe aussi avec une grande facilité dans de la caséine précipitée, remise en suspension dans l'eau et additionnée de sels minéraux nutritifs. Dans ce cas, le liquide étant presque dépourvu, surtout à l'origine, de matière azotée dissoute, on ne trouve que dans la couche de caséine les longs filaments immobiles du microbe, et les articles isolés et mobiles, sans manquer absolument, sont beaucoup plus rares qu'ailleurs. Mais l'attaque n'en est pas moins profonde, et les produits identiques à ceux que fournit la caséine du lait.

Le *tyrothrix distortus* ne s'attaque pas au sucre de lait ni à la glycérine. Somme toute, il vit un peu moins bien dans le lait que ceux que nous avons étudiés jusqu'ici, mais il est encore, à proprement parler, un ferment de la caséine.

Comme ceux qui précèdent, il est aérobie. Il peut pourtant encore se développer en présence de traces d'oxygène, mais dans la mesure même où l'oxygène est présent, et sans jamais prendre le caractère ferment.

Ses limites de résistance à la chaleur sont entre 100 et 105 degrés quand il est à l'état de spores, entre 90 et 95 quand il est à l'état adulte.

Tyrothrix geniculatus. — A l'air et dans le lait, ce microbe se développe en fils enchevêtrés, à coudes plus ou moins brusques, quelquefois avec des courbures élégantes, qui flottent dans le liquide et ne se forment pas en pellicules superficielles. Leur diamètre est de 1$^{\mu}$ environ, mais ils peuvent présenter, lorsque la température n'est pas convenable, des renflements irréguliers. Leur

longueur, lorsqu'ils sont jeunes, est d'environ 10 fois la largeur. Leur contenu, d'abord homogène, ne tarde pas à se remplir de granulations, très fines à l'origine, et donnant au bâtonnet un aspect doux et velouté, plus grosses ensuite et donnant au microbe, par suite des inégalités de réfraction qu'elles produisent, un aspect verruqueux. A tous les âges, le bâtonnet est immobile.

Dans la profondeur du liquide vivent et se développent des fils tout pareils, mais moins longs, moins enchevêtrés, formés d'articles qui sont quelquefois à peine plus longs que larges. Leur caractère granuleux est aussi plus marqué. Tous sont encore immobiles. Quelquefois, dans une chaîne un peu longue, un ou deux des articles deviennent évanescents, c'est-à-dire qu'ils semblent se vider et que leurs contours perdent toute netteté. Ceci témoigne que le lait n'est pas, pour cet être, un aliment très favorable. Ce qui le prouve encore, c'est qu'un grand nombre de filaments avortent sans donner de spores. Leurs granulations se condensent en amas irréguliers sur certains points, et l'enveloppe commune semble se dissoudre. C'est à la surface que les spores se forment le plus facilement. On les trouve régulièrement rangées dans les longs filaments, dont elles conservent la largeur.

Si l'on ensemence ce microbe de façon à lui laisser peu d'air pour son développement, on voit disparaître les longs fils et les longs articles. Les plus allongés n'ont guère que 5 ou 6^{μ} de longueur, les plus courts sont à peine plus longs que larges. Le caractère granuleux est tellement apparent qu'il donne quelquefois au microbe l'aspect flétri. C'est l'exagération de l'aspect que nous constations tout à l'heure dans les couches profondes du lait exposé par sa surface au contact de l'air.

C'est dans le bouillon Liebig que le microbe se développe le plus vite et le mieux. A une température de 25 à 30 degrés, il donne, en six heures, des fils longs et entrelacés, en quantité suffisante pour former des flocons flottants visibles à l'œil nu. Au bout de vingt-quatre heures, le matras est rempli de longs filaments flottant dans un liquide qui est resté parfaitement limpide. Ceci prouve que ces êtres n'ont aucune mobilité. On les trouve en effet à l'état de fils cloisonnés, assez courts, à articulations un peu anguleuses, et d'une longueur totale qui dépasse de beaucoup les limites du champ du microscope. Quelques articles sont isolés ou par paires et sont aussi immobiles. L'aspect est faiblement granuleux. Dans ces fils prennent naissance des spores qui finissent par s'isoler, et tombent au fond en laissant toujours au liquide une limpidité parfaite.

Ce microbe sécrète à la fois de la présure et de la caséase, mais en quantités plus faibles que ceux que nous avons déjà étudiés. Le lait où il a vécu ne peut guère coaguler que 12 ou 15 fois son poids de lait naturel. La caséase semble un peu plus active. Les deux diastases exercent leurs effets de front et, quand la température n'est pas élevée, le caséum se dissout à mesure qu'il se forme S'il fait plus chaud, la présure est favorisée, le caillé qui se forme empâte les filaments et les entraîne avec lui au fond du vase; mais ils ne tardent pas à se dégager en dissolvant la gangue de caséum qui les entoure.

Grâce à cette caséase, le filament peut vivre dans un liquide qui ne renferme, outre des sels minéraux, que du caséum précipité remis en suspension dans l'eau. Là encore, les microbes ne se développent qu'au voisinage des fragments

solides de caséum, qu'ils pénètrent et qu'ils finissent par dissoudre. Mais leur vie est moins facile que dans le lait, leurs segmentations sont plus courtes, les granulations plus grosses, l'aspect plus verruqueux. La largeur est aussi un peu moins grande.

Quand on a fait agir sur du lait de la caséase de ce microbe, seule, on trouve qu'il a conservé sa réaction amphotère. Il ne précipite pas à l'ébullition. Il donne, avec de l'acide acétique, un précipité peu abondant qui devient granuleux et fin quand on fait bouillir. L'eau de chaux ne donne rien à froid. L'eau de baryte y fournit, à froid, un précipité qui augmente et devient floconneux à chaud. Le ferrocyanure de potassium ne le précipite pas, et la liqueur se trouble faiblement sous l'influence d'une goutte d'acide acétique. Le sulfate de cuivre donne un précipité blanc bleuâtre, le sublimé corrosif un précipité floconneux abondant.

On voit que ce sont les mêmes réactions que celles que nous avons trouvées avec la caséase de divers microbes. Il y a donc des raisons de croire que toutes ces caséases sont identiques, comme les diverses présures. Le lait qui a subi seulement l'action de la diastase ne contient pas en solution de leucine et de tyrosine. Il y a seulement au fond, visible, le dépôt que nous connaissons bien de phosphate tribasique de chaux.

Le lait qui a nourri le filament renferme, outre la matière albuminoïde caractérisée ci-dessus et qui provient de l'action de la diastase, les matériaux de la destruction que cette matière a subie sous l'influence du ferment. Il est devenu un peu alcalin par suite de la formation de carbonate d'ammoniaque. Il y a de la leucine et de la tyrosine, et un mélange de valérianate et d'acétate d'ammoniaque, où le premier sel prédomine beaucoup; il y a en outre une matière très amère. Ces produits de destruction sont proportionnellement d'autant plus abondants que la vie du microbe s'est mieux faite au contact de l'air. Quand l'air manque, la réaction finale est beaucoup moins alcaline et les produits de l'action des diastases proportionnellement plus abondants.

Le sucre n'est pas atteint. Le *tyrothrix geniculatus* respecte aussi la glycérine.

Chauffé dans du lait dont la réaction est à peu près neutre, il ne supporte pas, lorsqu'il est à l'état adulte, d'être porté pendant une minute à la température de 80°. Mais lorsqu'il est à l'état de spores, toujours dans du lait, il supporte facilement, et sans en paraître affecté, un séjour d'une minute dons un bain chauffé à 100°. A 105°, son développement est retardé de quelques jours, mais il finit par se faire. A 110°, il est tué définitivement.

Tyrothrix turgidus (fig. 103, 1). — Cet être se présente lorsqu'il est jeune, et qu'on le cultive dans du lait exposé en grande surface à l'air, sous la forme d'articles courts et turgescents, ayant environ 1µ de largeur et une longueur double ou triple. Ils manifestent au plus haut degré le caractère aérobie. Quand ils sont en couche mince sous le verre du microscope, on les voit, au bout d'une ou deux minutes, rassemblés aux bords de la goutte. Ils y forment un liséré étroit, visible à l'œil nu, dont l'extrême bord est limité par une ceinture continue de ces petits boudins, rangés parallèlement les uns aux autres, et ayant chacun une extrémité en contact avec l'air vivifiant qui circule à l'extérieur. Ceux qui occupent cette situation privilégiée restent tout à fait immobiles. De temps en temps

seulement, l'un d'entre eux, dérangé par la foule des êtres qui grouillent derrière lui, abandonne le bord, laissant une place libre qui est immédiatement occupée par un autre.

Pendant que ce premier développement se poursuit, les couches superficielles du lait perdent leur opacité, en restant liquides si la température n'est pas trop élevée, en se coagulant légèrement dans le cas contraire. Mais le coagulum ne tarde pas à se dissoudre, et le lait se trouve bientôt transformé dans toute son épaisseur en un liquide translucide, un peu trouble et fortement coloré en jaune. La présure et la caséase y sont entrées en action, mais elles sont moins actives ici qu'avec aucun des microbes qui précèdent; la force de la présure, mesurée comme plus haut, ne dépasse pas le chiffre 6 ou 7.

Dans ce lait transformé, la vie du microbe se poursuit. Les boudins courts s'allongent en filaments qu'un cloisonnement ultérieur partage bientôt en articles, quelquefois à peine plus longs que larges, ainsi que le représente la figure. Ces filaments s'enchevêtrent dans tous les sens, se feutrent et forment à la surface une pellicule résistante et empâtée de matière albuminoïde. Puis se forment les spores.

Pendant tout son procès végétatif, le *tyrothrix turgidus* est aérobie, il absorbe l'oxygène et le transforme en un volume à peu près égal d'acide carbonique. C'est une véritable combustion qui se produit, très active les premiers jours, plus lente à la fin, mais jamais suspendue, même lorsque l'être a pris la forme de spores. Aussi, quand elle est terminée, trouve-t-on que la constitution du lait a été profondément modifiée.

Une portion du caséum s'est transformée en une matière analogue à la syntonine, qui n'est précipitable par la chaleur ni en solution neutre ni en solution acide, mais que les alcalis faibles et surtout l'eau de chaux et de baryte précipitent à froid et surtout à chaud en flocons blanchâtres. Comme le lait devient en même temps un peu alcalin, cette syntonine se précipite sous forme muqueuse, et c'est elle qui forme, avec les enchevêtrements du filament, cette pellicule superficielle que je signalais tout à l'heure à la surface du liquide.

L'alcalinité du lait est due à ce qu'il renferme un peu de carbonate d'ammoniaque. On y trouve aussi du butyrate d'ammoniaque qui a été plus abondant pendant que la fermentation était en train, mais qui a été peu à peu brûlé vers la fin. Une portion de la matière albuminoïde a pris le goût d'extrait. Il y a aussi de la leucine et de la tyrosine. Bref, on a sous les yeux tous les caractères d'une combustion véritable, et pour donner une idée du point auquel elle est quelquefois portée, je dirai que dans une expérience j'ai trouvé 13 p. 100 de la matière albuminoïde initiale à l'état de carbonate d'ammoniaque, 48 p. 100 à l'état de syntonine ou d'extractif, 7 p. 100 à l'état de matière organique vivante, formant le tissu des filaments ou des spores. Le reste, 30 p. 100 environ, avait été totalement brûlé, et n'était plus représenté que par de faibles proportions de leucine ou de tyrosine.

Le sucre reste absolument inaltéré. Le microbe peut pourtant vivre, quoique très péniblement, dans l'amidon et dans la glycérine. Il se refuse à vivre dans le lactate de chaux. Dans le lait, il laisse intacte, comme du reste tous ceux qui

précèdent, la matière grasse, qui ne subit qu'un commencement de saponification sous l'influence de l'alcalinité croissante du liquide.

Ce liquide présente, dès les premiers jours de la fermentation, l'odeur des caves à fromage, ou bien celle l'on trouve très développée dans les cavités remplies d'un liquide gélatineux que présente quelquefois la croûte des fromages du Cantal, conservés à l'humidité. Cette croûte est presque toujours l'œuvre du *tyrothrix turgidus*, ou, à son défaut, d'êtres tout pareils, aérobies comme lui, et empêchés, par ce caractère, de pénétrer dans la profondeur de la pâte. Aussi trouve-t-on dans cette croûte, outre la petite portion de matière albuminoïde qu'y ont laissée les lavages fréquents du fromage, de la leucine et de la tyrosine en grandes quantités, mélangées à un acide gras provenant de la saponification du beurre.

Le *tyrothrix turgidus* peut vivre en effet, quoique péniblement, aux températures ordinaires des caves. Mais il préfère celles qui sont voisines de 25° ou 30°. Lorsqu'on le chauffe davantage, son développement devient plus lent. Il périt, à l'état adulte, à une température voisine de 80°. A l'état de spores, il n'est tué qu'à 115°.

Tyrothrix scaber (fig. 103, 2).— Ce filament se présente, lorsqu'il est jeune, sous la forme d'articles assez courts, plus larges que le précédent, car leur épaisseur est de 1μ,1 à 1μ,2. Ils se distinguent de tous ceux que nous avons étudiés en ce que, dès l'origine et lorsqu'ils ont encore leurs contours délicats et leur aspect turgescent d'adultes, ils contiennent déjà une foule de granulations très fines qui les tapissent comme d'un pointillé imperceptible. Cet aspect granuleux et la raideur des articles jeunes permettraient de les rapprocher du *bacillus ulna* de Cohn. La forme ondulée et les mouvements flexueux qu'ils possèdent quelquefois les rapprochent aussi du *vibrio Rugula* du même auteur. Pour éviter toute difficulté, je leur ai donné un nom nouveau qui rappelle leur principal caractère.

Cet être est mobile quand il est jeune, mais ses mouvements, lents et lourds, n'existent guère que dans les articles isolés ou réunis par paires, et sont rares dans les chaînes plus longues Ils persistent plus longtemps dans les profondeurs du liquide qu'à la surface, où le microbe se développe assez vite en fils enchevêtrés, et forme une pellicule qui, d'abord continue, se disloque ensuite facilement et tombe sous forme de grands lambeaux qui restent attachés à la paroi. La facile dislocation de cette pellicule tient d'abord à ce qu'elle est épaisse et gélatineuse, ensuite à ce que les fils qui la composent se divisent en chapelets d'articles courts lâchement unis à leurs articulations, et se séparant très facilement sous la moindre traction.

Tous les grains de ces chapelets, lorsqu'ils se forment dans le lait, n'ont pas la même fortune. Les uns se flétrissent, laissent leur protoplasma se coaguler en grosses granulations amorphes, se résorbent en prenant des contours de plus en plus indistincts, et finissent par se réduire à un simple fil imperceptible. D'autres, au contraire, à côté des premiers, deviennent le siège de la série de phénomènes qui aboutissent à la spore. Chez ceux-ci, on voit les granulations disparaître, comme si elles étaient absorbées et utilisées pour la formation des

spores qui restent seules, quelquefois en nombre multiple, à l'intérieur d'un sac à contours très nets, plus ou moins réguliers.

Cet avortement d'une portion des grains des chapelets témoigne que le lait n'est pas un milieu très favorable au développement de ces petits êtres. Ils préfèrent en effet les dissolutions de gélatine, où se forment très bien les sacs sporiques, à une ou plusieurs spores, dont j'ai parlé plus haut. Ils vivent aussi très bien dans le bouillon Liebig, où ils sont même plus volumineux et plus dodus que partout ailleurs.

Ce filament est un aérobie, absorbant l'oxygène et en faisant de l'acide carbonique. Il ne se développe pas en présence de ce dernier gaz, et, dans les cultures à l'air, n'envahit que peu à peu les couches profondes du liquide où on le fait vivre. Rien, sauf la formation de la pellicule superficielle, ne trahit dès les premiers jours son existence dans le lait. Aucune coagulation, aucun changement dans la couleur et l'opacité. Les diastases de la caséine sont évidemment très peu actives avec cet être. Elles ne sont pourtant pas complètement absentes. Peu à peu en effet le liquide prend la couleur et la demi-transparence du petit-lait. Il est alors alcalin et a une odeur faible. Il contient, outre la leucine et la tyrosine, du carbonate et du valérianate d'ammoniaque. Presque toujours, on trouve encore un peu de caséine non transformée et se coagulant par la chaleur en présence des acides. Il est clair que le microbe ne l'attaque pas facilement. Il préfère les matières albuminoïdes déjà élaborées, soit par l'organisme des animaux supérieurs, soit par d'autres ferments, par exemple la syntonine, la gélatine, la matière extractive du bouillon Liebig malgré sa réaction acide, qui du reste devient bientôt alcaline sous l'action du microbe. Bien qu'il soit surtout un ferment de la substance azotée, le *tyrothrix scaber* ne se montre pas aussi exclusif dans ses besoins nutritifs que ceux que nous connaissons. Il attaque peu à peu le sucre dans le lait; il vit aussi aux dépens du sucre de canne.

Remarquons que le précédent qui, lui aussi, n'est pas par excellence un ferment de la caséine peut vivre aux dépens de cette substance, mais commence aussi à pouvoir s'accommoder d'aliments hydrocarbonés.

Dans les fromages, le *tyrothrix scaber* ne se développe pas à l'origine et attend que ses congénères lui aient préparé ses matériaux nutritifs. Aucun des procédés de fabrication en usage n'entrave du reste son développement, car, à l'état adulte, il meurt entre 90° et 95°, et à l'état de spores entre 105° et 110°.

Tyrothrix virgula (fig. 103, 3). — A la suite du *tyrothrix scaber* vient naturellement se placer un autre microbe qui le rappelle par la propriété qu'il possède de ne pouvoir se développer facilement ni dans le lait ni dans les dissolutions artificielles de caséine, ni dans l'albumine, ni même dans la syntonine. Ce microbe nouveau se développe au contraire, quoique péniblement, dans la gélatine et très facilement dans le bouillon Liebig.

Développé dans du bouillon Liebig, il se présente d'abord sous la forme de bâtonnets très minces, un peu moins larges que ceux du *tyrothrix tenuis*, à contours bien nets, bien cylindriques, isolés ou formant des chapelets à un petit nombre d'articles. A l'origine, ils sont très raides et n'ont pas de mouvements

flexueux. Ils prennent bientôt une forme très irrégulière, par suite de renflements qui se produisent sur leur longueur, de préférence au voisinage des articulations. Ce renflement grossit pendant que la portion du bâtonnet qu'il n'a pas atteinte se résorbe et s'amincit de plus en plus, de sorte que l'être tout entier prend des formes très singulières, dont la figure 103 ne donne qu'une idée affaiblie. Quelques-uns d'entre eux rappellent d'une manière frappante les spermatozoïdes. C'est dans les renflements que se fait ensuite le travail de formation des spores.

Dans la gélatine, le développement est évidemment plus difficile ; les contours sont moins nettement accusés, les segmentations plus nombreuses, les renflements plus irréguliers. Quelques-uns de ces derniers avortent et se flétrissent sans donner de spores. Dans d'autres, au contraire, on trouve une ou plusieurs spores bien sphériques, rangées comme des boules dans une sorte de sac à parois épaissies. Nous avons déjà observé ce fait, et précisément avec de la gélatine, dans l'étude du *tyrothrix scaber*. Je n'ai pas besoin d'ajouter que l'enveloppe des spores se résorbe à son tour et laisse les germes isolés à l'intérieur du liquide.

Le *tyrothrix virgula* est aérobie comme les précédents. Le liquide où il se développe devient bientôt alcalin par du carbonate d'ammoniaque. On y trouve aussi du butyrate d'ammoniaque. Il est difficile de dire ce que devient la matière albuminoïde, à cause de l'état mal défini sous lequel elle est prise et laissée par le microbe. La gélatine n'est plus de la gélatine après son action. Une portion en a été brûlée et détruite sans donner de produits ayant un goût ou une odeur désagréables.

Cette combustion et cette production de substances à peu près inoffensives pour le goût ou l'odorat constituent un caractère commun à tous les êtres aérobies décrits jusqu'ici, et on peut lui attribuer un haut degré de généralité, car il se retrouve chez un certain nombre d'autres microbes encore trop peu connus pour qu'on puisse faire ici leur histoire détaillée.

Je citerai diverses espèces de bactéries, difficiles à isoler à cause de leur petitesse, mais qui, toutes, sont des ferments des matières albuminoïdes, ont le caractère aérobie, et produisent des combustions en général très complètes, avec formation d'acides gras et de carbonate d'ammoniaque qui rend la liqueur alcaline; quelques-unes sont chromogènes, et nous les retrouverons plus tard.

Enfin les mucédinées ont la même propriété que les bactéries. Ensemencées sur une matière albuminoïde, elles en brûlent une partie, en donnant aussi du carbonate d'ammoniaque et des produits de combustion moins avancés, parmi lesquels l'acide oxalique. Lorsqu'on cultive, en lui laissant peu d'air, du penicillium sur une dissolution d'albumine ou de gélatine, les filaments mycéliens qui s'enfoncent dans le liquide se couvrent bientôt de cristaux octaédriques d'oxalate de chaux, fortement réfringents, brillant à la lumière comme autant de petits lustres microscopiques. Il faut noter que l'acide oxalique provient ici d'une substance originairement azotée. Les mucédinées, comme les bactéries et les filaments étudiés plus haut, donnent aussi de petites quantités de leucine et de tyrosine. Quelques-unes, comme nous l'avons vu, produisent aussi de l'urée.

On voit, en résumant ce que nous venons d'apprendre sur l'histoire des espèces aérobies, qu'elles ont des caractères communs. Elles produisent les mêmes diastases en quantités plus ou moins abondantes, déterminent à leur aide, dans les milieux où elles vivent, une matière albuminoïde identique pour toutes, transforment ensuite, pour leurs besoins vitaux, une partie de cette matière en produits nouveaux qui s'échelonnent en matériaux de moins en moins compliqués, de plus en plus brûlés, à partir de la matière primitive jusqu'aux sels ammoniacaux et au carbonate d'ammoniaque. Les termes intermédiaires de cette série sont sans doute en grande partie identiques chez les divers microbes, et formés, pour l'autre partie, de produits différents de l'un à l'autre. L'état d'ignorance où nous sommes sur la constitution de ces produits empêche de décider la question, mais on peut présumer qu'il en est réellement ainsi, en se fondant d'abord sur le grand nombre des réactions communes, puis en remarquant que lorsque, dans cette échelle de destruction de la molécule, nous arrivons à des produits cristallisables et faciles à caractériser, nous trouvons des termes communs à tous les microbes, la leucine, la tyrosine, peut-être l'urée, et d'autres particuliers à chacune d'elles, les différents sels ammoniacaux à acides gras.

Nous voyons, en outre, qu'avec ces êtres aérobies, les acides gras sont toujours saturés et même sursaturés par l'ammoniaque, ce qui les rend beaucoup moins sapides et odorants. Il n'y a jamais, en outre, avec ces microbes, de dégagement gazeux sensible. Ils se contentent de prendre l'oxygène et de le transformer en acide carbonique. Ils ne sont pas des ferments dans le sens qu'on donne d'ordinaire à ce mot. La production de gaz dans les masses qu'ils envahissent est au contraire le caractère commun des êtres anaérobies, dans l'étude desquels nous allons maintenant entrer.

BIBLIOGRAPHIE

Duclaux. — Mémoire sur le lait. *Ann. de l'Institut agronomique*, 1882.

CHAPITRE LVIII

FERMENTS ANAÉROBIES DE LA CASÉINE

Il est à peine nécessaire de faire remarquer qu'il ne faut pas prendre au pied de la lettre l'en-tête de ce chapitre, pas plus que celui du chapitre dernier. Rien ne prouve qu'on ne puisse découvrir un mode d'existence anaérobie aux êtres que nous venons d'apprendre à connaître. Ceux que nous allons rencontrer ne sont pas non plus des anaérobies purs, et peuvent quelquefois vivre au contact de l'air. Mais il suffit qu'ils puissent amener dans les milieux où ils vivent des dégagements gazeux plus ou moins abondants pour que, pratiquement aussi bien que théoriquement, on doive leur faire une place à part des aérobies. A cette première différence fondamentale s'en rattachent, en effet, d'autres, ainsi que nous allons pouvoir nous en convaincre en étudiant les êtres suivants.

Tyrothrix urocephalum (fig. 104, 2). — Cet être est sans doute un des agents les plus actifs de la putréfaction des matières animales. Il est répandu partout, il se développe facilement dans la plupart des matières azotées, et se fait à lui-même un milieu gazeux favorable, car bien qu'il soit de préférence anaérobie, il se rattache aux microbes du chapitre précédent parce qu'il peut vivre au contact de l'air. On peut le cultiver dans des matras Pasteur, où le lait est à l'origine exposé à l'air en grandes surfaces, mais où peut aussi se produire aisément une existence anaérobie, à cause des difficultés que rencontre le déplacement ou la diffusion à l'extérieur de l'acide carbonique produit.

Avec du lait dans ces conditions, le microbe se présente d'abord sous la forme de bâtonnets cylindriques d'environ 1^{μ} de diamètre, se mouvant avec rapidité. Puis ces bâtonnets s'allongent en fils qui s'enchevêtrent et forment à la surface des plaques disséminées, ou plutôt des îlots gélatineux, transparents, et se distinguant ainsi très bien de la masse opaque et laiteuse du liquide qui les porte. Si la température n'est pas trop élevée, ces taches claires finissent par devenir confluentes et envahissent peu à peu le liquide sans le coaguler. Si la température est telle qu'un coagulum se forme, on le voit s'infiltrer dans diverses directions de veines transparentes, et se diviser en une série de lobes muqueux qui disparaissent peu à peu. On reconnaît là l'intervention successive ou simultanée de la présure ou de la caséase, présentes encore ici, mais en très

faibles proportions. Dans les deux cas, il n'y a, à la fin de la fermentation, qu'un liquide à peine louche, surnageant les masses gélatineuses formées par le microbe.

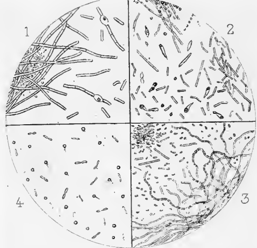


Fig. 104. — *Ferments de la caséine.*

1. Tyrothrix catenula.
2. Tyrothrix urocephalum.
3. Tyrothrix filiformis.
4. Tyrothrix claviformis.

Dans ces dépôts, les longs filaments de l'origine ont disparu et se sont segmentés en articles plus courts, isolés ou par groupes de deux. Chacun de ces articles se renfle en un de ses points, presque toujours à une de ses extrémités, en prenant ainsi la forme d'une massue. La figure 104 montre quelques-uns de ses autres aspects. Dans le renflement apparaît la spore, qui s'isole par résorption du tissu environnant.

L'air que renfermait le matras à l'origine a tout d'abord perdu son oxygène, qui a été remplacé par un volume égal d'acide carbonique. Puis le microbe, privé d'air, est devenu ferment et donne un dégagement gazeux formé de deux parties d'acide carbonique et d'une partie d'hydrogène. Il y a transformation partielle de cet hydrogène en hydrogène sulfuré, et le liquide prend une odeur putride très désagréable.

On peut faire jouer tout de suite au microbe son rôle de ferment, en l'ensemençant dans un tube rempli de lait, en présence de l'acide carbonique. Les bâtonnets sont alors plus gros en moyenne, ne donnent plus d'aussi longs fils, et prennent plus volontiers la forme de longs chapelets d'articles très souvent irréguliers de formes, surtout au moment où ils se renflent et commencent à donner des spores. Quelquefois même ou voit des articles jeunes et isolés se renfler sur toute leur longueur, en conservant leur mobilité, et se mouvoir lourdement dans le liquide avec les mouvements vermiculaires que leur permet la quasi-diffluence de la matière de leur corps, devenu transparent, à contours indistincts, presque gélatineux.

Lorsque le microbe est cultivé dans ces conditions, le lait prend tout de

suite une odeur désagréable, et le dégagement gazeux y commence bientôt. Toutefois, ce dégagement ne dépend pas uniquement de la forme anaérobie de l'existence du microbe. Il est aussi en relation avec la nature de la matière albuminoïde qu'on lui offre pour aliment. Il est abondant avec le lait ; mais si, lorsqu'il a cessé, on stérilise le liquide par une température convenable, et si on le reprend comme nouveau terrain de culture du même être, celui-ci se développe aisément à l'aide de la matière albuminoïde produite par la première fermentation, mais ne donne plus de nouveau dégagement gazeux. Nous retrouvons là l'intervention de l'aliment dans l'apparition ou la disparition du caractère ferment. Le résultat est le même lorsqu'on ensemence directement ce filament dans du bouillon Liebig en présence de l'acide carbonique. Toutefois ce milieu semble être moins favorable que le précédent à la vie sans air.

Il l'est moins aussi pour la vie au contact de l'air. On pourrait croire le contraire à voir les masses muqueuses qui s'y forment en vingt-quatre heures, et que le microscope montre formées de filaments enchevêtrés, plus longs et une fois et demie plus larges que dans le lait. Mais l'apparition rapide des renflements et des spores, l'avortement d'un grand nombre d'articles témoignent qu'en somme le milieu n'offre pas de bonnes conditions de nutrition.

Le *Tyrothrix urocephalum* s'accommode encore moins bien des dissolutions de gélatine. Il ressemble en cela aux cellules des organismes supérieurs, et a, au contraire, des propriétés inverses de celles que nous avons trouvées chez le *Tyrothrix virgula* que nous avons étudié plus haut. Le lait est l'aliment de prédilection de notre microbe. Il y respecte la matière grasse et le sucre. Il transforme la caséine en une substance analogue aux peptones, ne se coagulant pas à l'ébullition, même en présence des acides, précipitant à froid par l'eau de baryte, faiblement par l'eau de chaux, point par le ferrocyanure de potassium, Le liquide a une réaction très nettement acide. Il renferme en dissolution, outre de la leucine, de la tyrosine et une troisième amide cristallisable que je n'ai pu encore reconnaître, de l'acide valérianique uni à un mélange complexe d'ammoniaque et d'ammoniaques composées. La quantité de valérianate est d'autant plus faible que la fermentation s'est produite plus à l'abri de l'air. L'odeur est alors très désagréable, alliacée et putride. Elle est beaucoup plus franche et presque bonne dans le lait fermenté en large surface au contact de l'air.

Quelques-uns des caractères morphologiques de ce vibrion le rapprochent du vibrion butyrique, et l'on pourrait être tenté de les confondre. Mais le vibrion butyrique est un pur anaérobie, et le *Tyrothrix urocephalum*, de son côté, ne donne que de l'acide valérianique et pas d'acide butyrique. Je me suis assuré de plus qu'il n'attaque ni le lactate de chaux, ni la glycérine, dans lesquels le vibrion butyrique se développe très bien. Si ces deux êtres sont voisins, ils ne sont pas identiques.

Les conditions de résistance à la chaleur du vibrion butyrique n'ont pas encore été déterminées à ma connaissance; voici celles du *Tyrothix urocephalum*: à l'état adulte, et chauffé dans un liquide légèrement alcalin, il périt entre 90° et 95°; à l'état de spores, il meurt entre 100° et 105° dans un liquide neutre, et entre 95° et 100° dans un liquide très légèrement acide, comme celui dans lequel il se trouve vivre à la fin d'une fermentation qu'il a provoquée dans le lait.

Tyrothrix claviformis (fig. 104, 4). — Ce microbe se distingue du précédent par son caractère purement anaérobie. Il ne se développe pas au contact de l'air, même dans le liquide le mieux approprié. Il exige une atmosphère d'acide carbonique ou le vide. Le lait lui convient très bien. Il y prend tout d'abord la forme de petits bâtonnets de moins d'un millième de millimètre de diamètre, tantôt cylindriques, tantôt étranglés en leur milieu lorsqu'ils sont en voie de division. Je n'ai jamais trouvé plus de deux articles unis ensemble, et n'ai pas réussi à obtenir cet être sous forme de long fils. A un certain moment, une des extrémités du bâtonnet se renfle en une boule gélatineuse à bords très peu accusés, qui finit par se condenser en une petite spore ronde et noire, dont le diamètre est à peu près double de celui du fil. L'être ressemble alors à un clou ou plutôt à une épingle. Quand les articles sont doubles, les têtes sont aux deux extrémités ou bieu réunies côte à côte au milieu.

Une fois la spore formée, le filament se résorbe. Il s'amincit pour cela quelquefois au voisinage de la tête pendant qu'il se renfle légèrement à l'autre extrémité. Il affecte alors la forme d'un *point d'admiration*. Le corps de l'être est à ce moment très difficile à apercevoir si le liquide est en mouvement, à cause de sa faible réfringence, et si le liquide est en repos, il se cache pour l'observateru sous la spore, qui paraît plus légère que l'eau et occupe toujours la partie supérieure de la goutte, comme un flotteur. Ensemencées dans un nouveau liquide, ces spores se renflent un peu, s'allongent et donnent de nouveaux articles.

Pendant que ce développement s'accomplit, le lait se coagule d'abord, mais au bout de vingt-quatre heures le coagulum se redissout très régulièrement par le bas, et est remplacé par un liquide à peine trouble. Un gaz se dégage, formé d'environ deux volumes d'acide carbonique contre un volume d'hydrogène.

Les proportions de ces deux gaz n'ont pas la constance qu'elles présentent avec les êtres précédents. C'est un fait qui est sans doute en relation avec cet autre, que le *tyrothrix claviformis* n'attaque pas seulement la caséine, mais aussi le sucre de lait. On trouve même dans le liquide de l'alcool ordinaire, faiblement mélangé d'alcools supérieurs, et dont la quantité correspond à peu près à celle qu'aurait dû fournir le sucre disparu, en vertu de l'équation ordinaire de la fermentation alcoolique. Il se forme aussi, outre la leucine et la tyrosine, de l'acétate d'ammoniaque pur. La caséine primitive a disparu et est remplacée par une substance qui se coagule à l'ébullition comme l'albumine, et que l'eau de baryte précipite à froid, mais où le tannin et le bichlorure de mercure ne déterminent qu'un louche peu abondant. Il est difficile de rapporter cette substance à un des types connus dans les matières albuminoïdes, types qui ne sont du reste sans doute eux-mêmes que des produits artificiels ou des mélanges complexes de substances isomères ou de substances identiques diversement hydratées.

Le liquide légèrement acide n'a jamais une odeur bien désagréable, bien qu'il ait nourri un être anaérobie. Les gaz qui se dégagent ont même une bonne odeur, rappelant celle de la poire ou du coing, et due certainement à des traces d'éther dont la présence de l'acide acétique et de divers alcools explique la formation.

Ce qui semble d'accord avec cette manière de voir, c'est que le lait, à l'ori-

gine, lorsqu'il n'y a pas encore de sucre atteint en quantités sensibles, ou bien encore les liquides albuminoïdes non sucrés, comme le bouillon Liebig, ont toujours avec le microbe une odeur nettement putride.

Le caractère anaérobie s'accompagne ici d'une diminution notable dans l'activité des diastases, qui ne sont pourtant pas encore complètement absentes : elles le sont assez pour que le lait ne soit pas éminemment favorable au *tyrothrix claviformis*, et, corrélativement, nous voyons cet être pouvoir vivre aux dépens de substances différentes de la caséine. Nous avions déjà trouvé, dans les ferments aérobies, des exemples du même fait. Voici un être qui ne peut plus redissoudre la caséine précipitée.

Tyrothrix catenula (fig. 104, 1). — Le polymorphisme de ce microbe est nettement accusé. Développé dans le vide, ou dans l'acide carbonique pur, il prend la forme de filaments courts, extrêmement ténus, de moins de $0^{\mu},6$ de diamètre, immobiles, au moins sous le microscope, et d'aspect assez irrégulier. Quelques-uns sont comme composés d'une série de granulations accollées. Aussi sont-ils très difficiles à apercevoir, et on ne les reconnaît souvent qu'à une petite zone plus claire qui les borde, et qui est due à un phénomène de diffraction.

Si l'on essaie d'ensemencer ce microbe dans du lait exposé à l'air en grande surface et en petite épaisseur, il ne se développe pas, à moins que la semence n'ait été extrêmement abondante. Mais on peut le cultiver dans du lait aéré, à la condition de l'enfermer dans des tubes cylindriques où l'épaisseur soit grande par rapport à la surface, et où l'air dissous, une fois appauvri ou privé d'oxygène, ne se remplace pas facilement. On trouve alors ce microbe en filaments plus épais que tout à l'heure, voisins de 1^{μ}, à intérieur plus homogène, à contours plus nets et plus réguliers. Quand ces filaments sont isolés, ils ont des mouvements vibrioniens très actifs. Ces mouvements persistent dans les chaines d'articles, mais deviennent d'autant plus lents que la chaîne est plus longue. On trouve quelquefois des chapelets de 10 à 12 articles, soudés bout à bout, se mouvant par suite d'un mouvement commun, mais évidemment assez lâchement unis à leurs points d'articulation, et gardant une certaine indépendance d'action, car la file ressemble à une file de bateaux en mouvement sur une rivière.

Ces fils, à l'origine, sont assez régulièrement cylindriques, mais ils ne tardent pas à se briser et à prendre les formes les plus diverses d'olive, de navette, de fuseau, en s'élargissant en un point de leur longueur. Quelquefois cet élargissement se fait sur l'un des articles d'un couple de deux, dont l'ensemble prend alors la forme d'un têtard ; d'autres fois l'élargissement porte sur un article tout entier, qui devient méconnaissable, ayant pris une largeur double, et perdu tout mouvement. Ce premier changement en annonce de nouveaux. L'article renflé ou épaissi devient quelquefois de plus en plus réfringent en conservant sa forme et son volume, comme s'il s'entourait d'une espèce de kyste. Ce qu'il y a de sûr, c'est qu'il reste vivant. D'autrefois, l'être renflé amincit de plus en plus ses contours et se condense en une spore volumineuse, ovale, ayant en général une épaisseur supérieure à celle du filament primitif.

Toutes ces diverses formes paraissent au premier abord si différentes qu'on

ne les croirait pas appartenir à la même espèce, si on n'en suivait avec soin les transitions successives. Il y a toujours du reste un grand nombre de formes de passage. On trouve, par exemple, des chapelets d'articles en files de bateaux dont un seul article est fortement renflé. Il occupe en général une extrémité, mais n'exerce aucune action prépondérante sur la marche générale, car s'il est quelquefois en tête, on voit au bout d'un instant la file s'arrêter, et repartir en sens inverse avec l'article renflé en queue. De même on trouve encore des groupes de deux articles dont l'un, renflé en têtard, est déjà enkysté, tandis que l'autre, resté cylindrique, a conservé son aspect jeune et ses contours délicats. La planche donne une idée insuffisante de toutes ces variétés de formes.

Dans tous les cas, le développement de ce vibrion s'accompagne d'un dégagement de gaz tellement abondant qu'on croirait avoir sous les yeux une fermentation alcoolique. Ce gaz est formé de trois volumes d'acide carbonique pour deux volumes d'hydrogène, dont une portion se transforme, surtout au commencement de la fermentation, en hydrogène sulfuré. Malgré la présence de ce dernier gaz, l'odeur du liquide ne devient jamais franchement putride, et le goût en reste frais. Par sa consistance et ses propriétés organoleptiques, il rappelle tout à fait le lait à moitié digéré que vomissent quelquefois les enfants à la mamelle.

Son mode de coagulation diffère de celui auquel conduisent d'ordinaire les ferments de la caséine. Le lait où vit ce ferment devient tout d'abord un peu acide. Son opacité augmente par suite de la formation dans son intérieur d'un fin dépôt granuleux qui augmente de plus en plus. Lorsque ce précipité est devenu assez volumineux, il tombe au fond du vase, laissant au-dessus de lui du sérum presque privé de caséum. La forme est tout à fait celle de la coagulation survenant par l'action des acides.

Quand le dépôt de caséine se forme lentement, et se fait comme nous venons de le dire, les microbes qui habitent le liquide sont restés en liberté. Mais quand, le lait étant déjà un peu acide, il survient dans l'étuve un coup de feu qui en élève brusquement la température, le coagulum se forme tout d'un coup et empâte les vibrions. Tout dégagement gazeux cesse alors brusquement, et ce seul fait témoigne que le vibrion n'a aucune action sur le caséine.

On retrouve en effet celle-ci inaltérée, avec l'aspect du coagulum formé par les acides. Le sucre de lait reste intact, surtout dans les premiers moments, mais finit par être attaqué en partie. La seule substance atteinte en proportions sensibles est la portion de caséine dissoute dans le lait, qui se transforme en une sorte d'acidalbumine précipitable à froid par les bases, soluble même à chaud dans une liqueur acide, précipitable à l'ébullition dans une liqueur neutre. Une portion de la caséine est atteinte plus profondément et donne, outre la leucine et de la tyrosine, de l'acide butyrique dont partie rend la liqueur acide, partie est saturée par l'ammoniaque.

L'action s'arrête en général de bonne heure, à cause de l'acide qui gêne le vibrion. On peut réveiller une fermentation arrêtée en y ajoutant du carbonate de chaux stérilisé. Il vaut mieux additionner le lait à l'origine d'un peu de carbonate de chaux. Le liquide reste pourtant, même dans ce cas, un peu acide, l'acide butyrique ne décomposant pas la craie lorsqu'il est en solution très éten-

due. Mais la matière albuminoïde, résultat de la vie du microbe, paraît se précipiter dans ces conditions. Du moins, quand on filtre le liquide, il passe aussi peu coloré et aussi limpide que de l'eau, et évaporé, il ne laisse déposer que des cristaux de sucre de lait, sans mélange sensible d'une matière azotée incristallisable.

L'inaptitude à agir sur la caséine précipitée est accompagnée, chez notre microbe, de l'absence complète de toute présure et de toute caséase, nouvelle preuve que tous les ferments de la caséine ne se ressemblent pas.

Quand on étudie la résistance à la chaleur des adultes et des germes de ce microbe, il faut tenir compte de la difficulté avec laquelle ils se développent dans les liquides trop exposés au contact de l'air. Des adultes chauffés à 85° pendant une minute, semés ensuite dans un tube Pasteur, comme nous l'avons dit en commencant, ne se développent pas, et on pourrait les croire morts. Mais si l'on fait seulement le vide dans le tube, on le voit se peupler. Les êtres étaient donc restés vivants, mais ils avaient contre eux deux choses, l'aération de la liqueur, et l'état de souffrance où les avait réduits le chauffage, peut-être aussi la réduction qu'ils avaient subie dans leur nombre à cette température qui, étant une sorte de température limite, avait pu tuer les plus jeunes en respectant les autres. Si l'on diminue la proportion d'air, si l'on ensemence en plus larges quantités, le développement peut se produire. Mais à 90° les adultes sont définitivement détruits; à l'état de spores, le microbe ne périt qu'à 105°.

L'aspect général des formes de ce vibrion, son caractère anaérobie, l'acide butyrique qu'il produit pourraient faire croire qu'il est identique au vibrion butyrique du lactate de chaux. Il en diffère pourtant par un peu plus de ténuité, mais, quand il prend ses formes renflées, la ressemblance s'accuse. Les deux êtres sont pourtant différents. Le nôtre ne se développe pas dans le lactate de chaux, ni au contact, ni à l'abri de l'air. Nouvelle raison de ne pas traiter de vibrion butyrique tous ceux qui produisent de l'acide butyrique. Voici le second microbe anaérobie, ferment de la caséine, que nous rencontrons jouissant de cette propriété, et néanmoins incapable de transformer le lactate de chaux, comme le fait si facilement le vibrion qui, depuis les travaux de M. Pasteur, doit être seul revêtu du nom de vibrion butyrique.

Mécanisme de la destruction de la caséine. — Nous ne pousserons pas plus loin l'étude des ferments anaérobies de la caséine. Ce qui précède suffit à mettre en évidence les traits généraux de leur histoire. On voit qu'ils sont en moyenne de plus médiocres producteurs de diastases que les aérobies, que, tout en donnant les mêmes acides gras que ces derniers, ils les saturent moins d'ammoniaque, et créent des milieux plus sapides et plus odorants. Cette odeur est augmentée par celle du dégagement gazeux qui, renfermant toujours de l'hydrogène libre, se formant dans un milieu réducteur où abondent les matériaux sulfurés et phosphorés, s'accompagne toujours d'un peu d'hydrogène sulfuré et d'hydrogènes phosphorés. Si à l'odeur que prend ainsi le gaz dégagé, on ajoute l'inconvénient du boursouflement qu'il amène dans la masse où vivent ces microbes, on conclura facilement que les anaérobies sont plus redoutables que les aérobies pour l'industrie du lait ou des produits divers qu'on en tire.

Si nous cherchons maintenant à résumer en quelques mots les faits que vient de nous fournir l'étude des ferments aérobies et anaérobies du lait, nous voyons que tous ces êtres, bien que pouvant vivre aux dépens de la caséine, n'en vivent pas tous avec la même facilité. Pour certains d'entre eux, comme le *tyrothrix tenuis*, cette caséine est un aliment admirablement approprié. Pour d'autres, comme le *tyrothrix catenula*, elle ne le devient qu'après avoir subi l'action de la caséase. Pour d'autres, tels que le *tyrothrix virgula*, elle ne devient assimilable qu'après avoir subi une transformation plus profonde, qui en fait une matière analogue à l'extrait de viande. Pour le *tyrothrix scaber*, c'est seulement lorsqu'elle est gélatinisée qu'elle est facilement absorbée. Chacun de ces êtres, prenant la caséine initiale à un certain point de son échelle de destruction, la fait descendre de quelques degrés, après quoi son action s'arrête, lorsqu'il l'a amenée à un état tel qu'il ne s'en accommode plus que difficilement, et, en principe, la destruction complète de la caséine exigera le concours de plusieurs espèces.

Nous sommes bien préparés maintenant à comprendre le mécanisme de la disparition de la caséine dans un lait qui ne serait envahi que par les divers ferments de cette substance, ou dans une masse de caillé provenant d'un lait envahi, comme il l'est d'ordinaire, par une foule d'êtres de nature diverse.

A la surface de la masse, que ce soit du lait ou du caillé, pulluleront les êtres aérobies, empruntant à l'air son oxygène, et l'employant à brûler les matières organiques en dissolution. Quelques-uns, qui peuvent s'accommoder d'une privation plus ou moins complète d'oxygène, s'enfonceront plus ou moins dans les profondeurs du liquide, et s'y mélangeront avec des anaérobies purs. Là, il y aura fermentation, et dégagement gazeux désagréablement odorant dans la plupart des cas.

Une fois développés dans toute l'épaisseur du liquide, ces êtres formeront en quelque sorte une société de secours mutuels. Ceux de la surface préparent des diastases pour ceux de la profondeur, et les préservent de l'action de l'oxygène; ceux de la profondeur produisent des gaz qui brassent le liquide, favorisent la volatilisation du carbonate d'ammoniaque, et rendent la vie plus facile aux aérobies. Quelques-uns prennent comme point de départ les matériaux élaborés par d'autres, et respectés ensuite parce qu'ils sont devenus impropres ou même nuisibles. Ils les détruisent, les décomposent, les amènent à une forme plus simplifiée sous laquelle ces aliments sont repris par une espèce moins difficile. De sorte qu'en résumé, la matière organique initiale se réduit à ses éléments minéraux qui restent, et à des matières gazeuses qui ont passé dans l'air pour y recommencer une nouvelle série de pérégrinations.

Fermentation et putréfaction des matières albuminoïdes. — Nous avons évidemment le droit, sans plus ample informé, d'étendre ces conclusions à toutes les matières albuminoïdes. Nous ne connaissons pas encore l'histoire détaillée des espèces qui les attaquent, mais quelles qu'elles soient, il n'est pas douteux qu'elles ne commencent comme avec la caséine, par dissoudre celles qui sont solides, ou plus généralement par rendre assimilables celles qui ne le sont pas sous leur état actuel. Les diastases qui agissent dans ces con-

ditions sont-elles identiques à la caséase ? Cela est possible. Nous avons vu en effet la caséase du tyrothrix tenuis redissoudre la fibrine ou l'albumine coagulée. Mais l'effet des diastases est aidé ou contrarié par tant de circonstances en apparence insignifiantes, qu'il est prudent de ne rien affirmer là-dessus. Toutefois, si la spécificité des diastases est douteuse, leur existence est tout à fait certaine, et la fibrine solide, l'albumine coagulée, la chair musculaire, sont dissoutes, liquéfiées, rendues assimilables par le même mécanisme, sinon par le même principe que la caséine coagulée ou liquide dans nos expériences de plus haut.

Nous avons également le droit d'affirmer que la destruction d'une masse de fibrine se fera comme celle d'une masse de caséine, en plusieurs périodes, et exigera aussi le concours de plusieurs espèces différentes, chacune amenant la matière primitive, par soustraction d'hydrogène, de soufre, d'acide carbonique, à un état plus simple, sous lequel elle l'abandonne pour le livrer en proie à une autre espèce qui lui fait faire un nouveau pas dans la voie de la décomposition.

Il serait bien utile de pouvoir suivre la molécule originelle dans cette voie de dégradations successives. On a le droit de penser, en se rapportant aux faits que nous avons bien établis avec le sucre et les acides organiques, que la dérivation, la destruction graduelle, se fait par élimination d'hydrogène et d'acide carbonique, lorsqu'on s'adresse aux anaérobies. Mais ce que nous avons vu à propos du sucre ou des acides organiques nous montre, et nous avons insisté là-dessus, que toutes ces éliminations se font sans tenir grand compte du type initial, et en donnant des groupements intermédiaires qui n'ont aucune relation profonde, dans leur constitution, avec la molécule primtive. L'expérience apprend aussi que ces résidus de fermentation sont peu nombreux, au regard des substances qui les fournissent, et se retrouvent toujours à peu près les mêmes dans les divers cas.

Il en est de même avec les matières albuminoïdes. On retrouve toujours, comme produits ultimes de la vie des anaérobies, les mêmes corps, la leucine, la tyrosine, la butalanine, l'urée, les sels ammoniacaux à acides gras, le carbonate d'ammoniaque. Sans doute, entre ces termes ultimes et les matières primitives, il y a un beaucoup plus grand nombre d'intermédiaires possibles avec la matière azotée qu'avec les sucres, et il est possible que ces termes intermédiaires conservent mieux le souvenir de la structure de la molécule originelle que les termes ultimes que nous venons de citer. Mais cette probabilité paraît faible quand on songe, d'abord que la dégradation de cette molécule doit commencer dès l'origine, et, en second lieu que les termes intermédiaires présentent, avec des microbes et des matériaux initiaux très divers, de très grandes ressemblances, au moins à l'égard des réactifs que nous avons mis en œuvre jusqu'ici.

En envisageant en gros la voie de destruction que suivent les matières organiques, nous trouvons au point de départ les substances albuminoïdes véritables, fibrine, albumine, caséine, pour nous borner aux principales. A un niveau inférieur, nous trouvons cet ensemble déjà confus qu'on peut appeler des peptones, celles qui sont insolubles dans l'alcool étant plus voisines du type initial que celles qui sont devenues solubles dans ce liquide. Au-dessous, nous avons les

matières dites extractives, solubles dans l'eau, l'alcool, et les acides étendus. Jusqu'ici nous n'avons rencontré que des matières amorphes, difficiles à séparer les unes des autres et par suite peu connue. Plus loin, nous avons affaire aux composés cristallins, appartenant aux derniers termes de la série et que nous rappelions plus haut.

Or, ceux-ci sont toujours à peu près les mêmes. Les diverses matières extractives se ressemblent aussi beaucoup. Les peptones se ressemblent peut-être un peu moins, bien qu'il faille beaucoup rabattre, comme nous l'avons vu, des distinctions qu'on a essayé de faire entre elles, en cherchant à caractériser des *peptones albumine* et des *peptones fibrine;* mais il n'est pas douteux qu'elles se ressemblent plus que les matières initiales. Concluons donc que l'étude des produits de dédoublement ne peut pas nous dire grand'chose sur la constitution de ces matières complexes. Comme l'action des réactifs, celle des bases ou celle des acides ressemble, dans son action sur la molécule originelle, à eelle des infiniment petits, puisqu'il est possible de préparer, à l'aide de ces corps, des substances identiques à celles que forment les microbes, on voit qne nous avions quelques raisons d'exprimer, au chapitre précédent, l'opinion qu'il n'y avait pas grand'chose à attendre de la destruction ménagée de la molécule albuminoide soit par la voie des réactifs, soit par celle des ferments. Si ménagée qu'elle soit, elle la détruit d'une façon irrégulière, et les produits de démolition s'agrègent en groupements nouveaux, ou du moins en groupements que rien ne démontre avoir existé dans la construction initiale.

Nous rencontrerons de nombreuses confirmations de ces vues dans l'étude que nous aurons bientôt à faire, par le détail, du phénomène de la putréfaction, mais nous pouvons dire que nous en connaissons maintenant l'essence. Nous avons examiné la putréfaction de la caséine, et nous savons que la putréfaction des autres matières albuminoides pourra présenter des différences de mode, mais revêtira les mêmes caractères essentiels. Toutefois nous ne pouvons pas nous borner, pour ce sujet important, à ces notions succinctes: il nous faut examiner les conditions dans lesquelles s'établit la putréfaction, les produits qu'elle développe, les moyens qui permettent de l'éviter ou d'en pallier les effets. C'est ce que nous ferons bientôt. Nous avons tout d'abord à rattacher, suivant notre habitude, aux notions théoriques que nous venons d'acquérir, les importantes industries qui en relèvent. Ce que nous avons dit à propos du lait nous conduit tout naturellement à dire quelque mots des industries dont cette substance forme la base. Nous avons déjà, à propos de la fermentation lactique, étudié la conservation de ce liquide. Nous avons à nous occuper maintenant de la fabrication et de la conservation des beurres et des fromages. Nous allons voir intervenir là les microbes dont nous venons de tracer l'histoire.

BIBLIOGRAPHIE

Duclaux. — Mémoire sur le lait. *Annales de l'Institut agronomique.* 1882.

CHAPITRE LIX

LAIT, CRÈME ET BEURRE

Composition du lait. — Il existe un très grand nombre d'analyses de lait. Comme nous ne nous proposons pas ici d'étudier ce liquide, mais seulement d'examiner ses relations avec les ferments qui peuvent l'envahir, nous nous contenterons d'indiquer ici sa composition moyenne, déduite par M. Fleischmann de tous les nombres publiés, avec les valeurs extrêmes de ces nombres. On peut l'écrire ainsi.

	Composition moyenne.	Valeurs extrêmes.	
Eau.	87,25 p. 100	90,00 p. 100	83,63 p. 100
Matière grasse.	3,50 —	2,80 —	4,50 —
Caséine.	3,90 —	3,30 —	5,55 —
Sucre de lait.	4,60 —	3,00 —	5,50 —
Cendres.	0,75 —	0,70 —	0,80 —
	100,00		

Nous avons seulement confondu, sous la dénomination unique de caséine, ce que M. Fleischmann, d'accord en cela avec divers auteurs, sépare sous les noms de caséine et d'albumine, parce que nous avons vu, au chapitre XLV, qu'il n'y avait aucune raison sérieuse de croire à la présence de l'albumine, et que l'on avait sans doute pris pour de l'albumine la portion de caséine que nous savons être en solution, portion distincte de la caséine en suspension dont nous avons constaté la présence.

En outre des matériaux visés dans l'analyse qui précède, on trouve encore dans le lait diverses substances dont nous avons à dire un mot.

Il y a d'abord des gaz. Aucune analyse n'a porté sur les gaz du lait, tel qu'il existe dans la mamelle. Toutes ont été faites sur du lait extrait à l'air et ayant certainement dissous une partie de ce gaz. Elles ont montré que 1 litre de lait de vache renfermait de 65 à 85 centimètres cubes de gaz, dont 75 à 90 p. 100 sont de l'acide carbonique et le reste de l'azote et de l'oxygène. On voit que le lait après la traite renferme toujours un peu d'oxygène libre, qui, nous le savons, en disparaît rapidement,

Morin, de Genève, et après lui, MM. Bouchardat et Sandras, ont trouvé de l'urée dans le lait de vache et d'ânesse. Les recherches de M. Lefort tendent à faire considérer cette substance comme un produit normal dans le lait. Les proportions moyennes trouvées ont été de $1^{gr},5$ de nitrate d'urée sur 8 litres de petit lait, correspondant à 10 litres lait. Cela fait à peu près 73 milligrammes d'urée par litre. Commaille a trouvé de la créatinine dans du petit lait putréfié, mais les résultats contenus dans les deux chapitres qui précèdent nous permettent d'affirmer qu'il n'en peut résulter aucune conclusion pour le lait normal. La présence de la créatine, de la leucine et de la tyrosine sont également douteuses.

Constitution physique du lait. — La constitution physique du lait joue dans son histoire un rôle au moins aussi important que sa composition chimique. Nous savons déjà à quel état sont sa caséine et son sucre de lait. Nous avons vu aussi que son phosphate de chaux est en partie à l'état de suspension. Mais nous n'avons encore rien dit au sujet de la matière grasse.

Elle se présente au microscope sous la forme de globules ronds, de tailles diverses, variant entre 10^{μ} et $1^{\mu},6$ de diamètre. Les plus nombreux ont un diamètre variant entre 3 et 5^{μ}. Comme ils sont formés d'une substance réfringente, ces globules s'entourent, par suite d'un phénomène de diffraction, d'une couche plus claire, séparée du globule par une ligne très nette, ou divers observateurs ont voulu voir la trace d'une membrane élastique solide, entourant chacun des globules. Ils ne s'accordent guère sur la nature chimique de cette membrane, et le mot de *serumhulle* (enveloppe de sérum), souvent employé en Allemagne pour la désigner, montre assez, par la contradiction qu'il renferme, qu'on ne sait pas de quelle matière est formée cette membrane; mais son existence ne semble pas douteuse, et s'appuie sur deux ordres de faits: le premier est la résistance qu'on éprouve à agglomérer les globules butyreux dans l'opération du barattage, résistance qui se comprend tout de suite s'il y a à rompre une membrane; le second est que l'éther, agité avec le lait, n'en dissout pas la matière grasse, ce qui conduit par une autre voie, à l'idée que le globule est protégé par une membrane, que cette expérience montre précisément, en apparence au moins, n'être pas un corps gras. De là, par un effet réflexe qui ressemble à une pétition de principe, l'idée d'en faire de la caséine ou du sérum.

Une expérience bien simple montre que cette enveloppe n'a aucune réalité. Lorsqu'on laisse du lait stérilisé parfaitement en repos, la crème monte à la surface et y forme une couche assez cohérente, que l'action combinée du temps et des différences de densité dépouille d'une façon assez complète du liquide qui l'imprégne d'ordinaire. Dans cette couche, le microscope montre les globules gras serrés les uns contre les autres, ronds, ayant conservé leur aspect et leur semblant d'enveloppes. Si l'on presse sur la lamelle de verre qui les recouvre, on les voit s'aplatir et prendre des formes très irrégulières en conservant toujours le même liseré. Si l'on fait glisser la lamelle de façon à les faire frotter les uns contre les autres, on les voit se réunir, se souder en masses irrégulières qui s'arrondissent de nouveau, si on les fluidifie un peu en chauffant, ont alors

un volume plus grand, et se montrent toujours entourées de la même façon qu'à l'origine. Bref, on peut faire et défaire du beurre sous le microscope sans jamais voir trace de l'existence de cette membrane enveloppante, mais en trouvant toujours autour des globules, gros et petits, les traces du même phénomène de diffraction.

On peut, du reste, comme je l'ai montré dans un travail sur la stabilité des émulsions, fabriquer un lait artificiel, possédant les propriétés physiques du lait naturel, en agitant de l'huile ou du beurre fondu avec une dissolution de panamine. Ce lait reste longtemps homogène, laisse peu à peu monter sa crème, qui se réunit à sa surface en couches cohérentes difficiles à réunir en une masse unique; les globules gras présentent au microscope le même aspect que dans le lait naturel. Or, là, on ne peut admettre la formation d'une membrane spéciale autour de chacun des millions de globules que l'émulsion produit en un instant. On a donc le droit de récuser l'existence de cette pellicule superficielle.

Elle n'est du reste pas nécessaire pour expliquer les phénomènes qu'on lui attribue d'ordinaire. Si les globules de beurre, remontés à la surface et y formant une masse assez compacte, ne se soudent pas entre eux, c'est précisément parce qu'ils sont en émulsion et qu'il y a ce qu'il faut dans le liquide pour rendre l'émulsion persistante. Lorsqu'un liquide A est en émulsion, c'est-à-dire disséminé sous forme de très fines gouttelettes dans un liquide B, il faut, pour produire l'agglomération des globules de A, diverses conditions qui ne sont pas toujours remplies. Il faut d'abord que ces globules viennent au contact les uns des autres.

Ce rapprochement est en général favorisé par une différence de densité qui pousse à la surface ou fait tomber au fond le liquide A. Ce mouvement d'ascension ou de chute dépend à son tour de l'état plus ou moins visqueux du liquide B, et de la finesse des globules de A, qui chemineront d'autant plus péniblement dans le liquide B qu'ils seront plus petits.

La lenteur avec laquelle la matière grasse se réunit à la surface dans les laits, témoigne que ces deux premières causes de la stabilité de l'émulsion ne sont pas négligeables. Mais elles ne sont pas suffisantes, et il faut encore que les globules de A, serrés les uns contre les autres, à la surface ou dans le fond de B, par la pression du liquide environnant, arrivent à se souder en une masse homogène.

J'ai montré qu'il fallait pour cela deux conditions nouvelles, empruntées aux phénomènes qui se produisent au contact de deux surfaces liquides, ou d'une surface liquide avec un gaz, c'est-à-dire aux phénomènes de capillarité.

Il faut d'abord que les lamelles du liquide B, qui restent toujours interposées entre les globules de A, se laissent briser facilement. Tous les liquides ne se ressemblent pas sous ce rapport. Les uns se laissent gonfler en bulles ou deviennent mousseux par l'agitation, comme par exemple les solutions de savon : c'est dire que leurs lamelles sont très résistantes. On peut prévoir que si elles résistent à la pression de l'air, elles résisteront aussi à la pression de deux globules qui tendent à s'unir au travers d'elles. Les liquides les plus mousseux donneront donc, toutes choses égales d'ailleurs, les émulsions les plus stables, et sous

ce rapport le lait, très mousseux quand on l'agite, sera un obstacle à l'agglomération des globules gras.

Mais la résistance des lamelles du liquide B n'est pas la seule que doivent vaincre les globules de A pour se réunir. Il y a en action, sur toute leur surface, une force figuratrice identique, sauf la grandeur, à celle qui arrondit les gouttelettes d'eau ou de métal en fusion. Ils sont comme enveloppés d'une sorte de membrane élastique dont ils doivent vaincre la résistance pour se souder, et l'expérience montre que cette membrane est d'autant plus résistante que les deux liquides qu'elle sépare ont des constantes capillaires moins voisines, c'est-à-dire que les poids de ces liquides soulevés dans un même tube capillaire sont plus inégaux. C'est là précisément une condition qui se trouve assez bien vérifiée pour le lait écrémé et la matière grasse, et qui, en s'ajoutant aux précédentes, permet de comprendre très bien pourquoi les globules de crème restent si longtemps isolés dans le lait.

En employant le mot de membrane élastique, nous ne réintroduisons pas par une autre porte la notion de pellicule-enveloppe, à laquelle nous avons été conduit à renoncer tout à l'heure; notre membrane est une pure conception physique et n'a aucune réalité. Elle est liquide et à la même composition que le corps qu'elle est censée recouvrir, mais c'est une portion de liquide que le jeu des forces moléculaires dote de propriétés rétractiles, à la façon des membranes minces de caoutchouc.

En faveur de l'existence de cette pellicule superficielle dont nous discutons la réalité, on a avancé un autre argument, c'est que le lait, qui agité avec de l'éther, ne lui abandonne pas sa matière grasse, la lui cède lorsqu'il a été additionné au préalable de quelques gouttes d'une solution de soude caustique. On admet, sans démonstration autre que le résultat de l'expérience, que l'alcali ajouté a dissous l'enveloppe extérieure des globules gras, et leur a permis d'arriver ainsi en contact avec l'éther. Mais, en étudiant de près ce qui repasse, on voit qu'ici encore on n'a pas besoin de la pellicule pour tout expliquer. L'éther qu'on ajoute dans du lait précipite le caséum, et forme avec le tout une masse pâteuse où il entre en émulsion lui-même. Ce n'est que peu à peu, quelquefois après un an, qu'il remonte à la surface, et on trouve alors qu'il a dissous autant de matière grasse qu'on peut raisonnablement le demander après un contact en somme si peu intime. Quand on ajoute de la soude, le caséum transformé ne précipite plus par l'éther, l'émulsion produite est beaucoup plus instable à cause de la moindre viscosité du liquide, le contact de l'éther et de la matière grasse plus intime, et l'ascension plus rapide, mais c'est là la seule différence. M. Soxhlet a montré en effet que le lait coagulé par un acide, et traité par l'éther, lui abandonnait sa matière grasse si l'on brassait le liquide par un courant continu d'acide carbonique, qui n'agit évidemment qu'en favorisant le contact du dissolvant et de la matière à dissoudre.

Nous admettrons donc que nos globules de matière grasse sont homogènes, et doivent leur forme ronde à l'effet des forces capillaires. Ils remontent lentement à la surface, les plus gros y arrivant les premiers, les plus petits pouvant rester presque indéfiniment en suspension, à cause de la différence, très faible chez eux, entre la force ascensionnelle qui décroît comme le cube du diamètre et la

résistance au mouvement qui décroît seulement comme le carré de ce même diamètre.

A ees causes viennent se joindre des différences de composition. Voici à ce sujet les résultats d'une expérience de M. Schroder, qui a étudié en 1872 les propriétés de la matière grasse d'un même lait à des périodes diverses de l'écrèmage. La première crème (n° 1) avait été recueillie après un court repos, le n° 2 après le temps ordinaire. Pour le n° 3, on avait abandonné le lait écrémé à un repos complet, et on avait recueilli les dernières portions de crème qui étaient montées à la surfaee. Voici quelles étaient les densités et les points de fusion de la matière grasse retirée de ces diverses crèmes.

	Couleur.	Densité.	Commencement de fusion.	Fusion complète.	Commencement de solidification.	Solidification complète.
	—	—	—	—	—	—
1.	Jaune d'or.	0,90	20°	33°	22,5	16°
2.	*Id.*	0,92	20°	33°	27,0	23°
3.	Blanche.	0,94	33°	42°	25,0	23°

Il est possible que pendant le long repos laissé au lait pour obtenir la crème n° 3, il y soit survenu, par suite de la présence des ferments, des modifications qui aient un peu chargé la nature de la matière grasse, mais les changements qui se font dans ee sens sont trop lents, comme nous le verrons, pour expliquer les différences trouvées, et nous admettrons que les plus fins globules ont une densité un peu plus grande, et un point de fusion un peu plus élevé que les plus gros. Nous reneontrerons bientôt un fait qui eonelut dans le même sens.

L'expérienee ei-dessus nous montre que la matière de la crème est solide aux températures ordinaires des laiteries. Il n'en résulte pas, remarquons-le, que les globules de crème soient solides dans le lait à ces mêmes températures. On peut, en effet, comme Soxhlet l'a fait le premier, les supposer à l'état de surfusion. Cette surfusion n'est pas absolument comparable à celles qu'éprouvent l'eau et les autres substances homogènes, dont la cristallisation est rapide à partir du moment ou une cause quelconque l'a provoquée. La lenteur dans la solidification est un des caractères les plus apparents des matières grasses, et nous verrons qu'elle empêche d'accepter le rôle prépondérant que Soxhlet fait jouer à cette solidification dans son explication du phénomène du barattage. Mais il ne semble pas douteux que la surfusion ne s'observe fréquemment dans les matières grasses, et que grâce à leur état de suspension en fines gouttelettes, les globules butyreux ne puissent eonserver longtemps à la température ordinaire l'état liquide qu'ils ont incontestablement à la sortie du pis. Ce n'est qu'au voisinage de 0° qu'ils le perdent, et ils manifestent alors des propriétés nouvelles sur lesquelles nous aurons l'occasion de revenir.

La richesse d'un lait en matière grasse, et, on a le droit de le croire d'après les faits précédents, la composition de cette matière grasse elle même varient avec la race, la nature de l'herbage, et même suivant les individus. Sur la même vache, on sait que la composition du lait n'est pas la même au commencement et la fin de la traite. Dans une intéressante expérience à ce sujet, M. Boussingault

a trouvé les résultats suivants, en fractionnant en six parties la traite d'une même vache, et en analysant ces six laits.

	I	II	III	IV	V	VI
Poids du lait en grammes. . . .	398	628	1295	1390	1565	315
Densité.	1,0339	1,0329	1,0325	1,0320	1,0312	1,0301
Extrait sec en centièmes. . . .	10,47	10,75	10,85	11,23	11,63	12,67
Matière grasse en centièmes. . .	1,70	1,76	2,10	2,54	3,14	4,08

Cette différence n'est pas due, comme on l'a souvent dit en interprétant arbitrairement les résultats de M. Boussingault, à ce que le lait dans la mamelle de la vache serait comme dans un vase en repos, surmonté de sa crème, qui n'arriverait que peu à peu au pis, au fur et à mesure de la traite. Les espèces de citernes dans lesquelles se réunissent tous les conduits galactophores de la mamelle de la vache, n'ont pas elles toutes un litre de capacité, et ne pourraient contenir tout le lait d'une traite. Le reste est réparti dans tout l'organe, et vient pendant la traite par voie d'épuisement et de sécrétion continue. Le mécanisme profond de l'augmentation de la sécrétion de la matière grasse est donc plus compliqué qu'on ne le suppose.

Les chiffres du tableau ci-dessus montrent que, de la première à la sixième portion de la traite, le poids de l'extrait sec a augmenté de 2,2 et celui de la matière grasse de 2,38. Ces deux nombres sont très voisins, et permettent de conclure que le poids de toutes les autres matières que le beurre reste à peu près constant du commencement à la fin de la traite.

Écrémage. — Tout ce qui précède peut faire prévoir que l'épaisseur de la couche de crème formée à la surface d'un lait sera extrêmement variable. Elle dépendra d'abord de la richesse en matière grasse, de la grosseur moyenne des globules, par conséquent de leur composition. Ce sont là des influences que nous avons appris à apprécier ; elle dépendra aussi des conditions physiques de l'écrémage. Elle sera la plus faible possible si le lait a été chauffé et si la crème a pu, par suite, s'agglomérer à la surface. La crème monte plus vite dans le lait chaud, pour plusieurs raisons : parce que les globules se dilatent plus que le liquide, que leur force ascensionnelle croît par suite, que la résistance qu'ils rencontrent diminue avec la viscosité du liquide. Par contre, ils monteront plus lentement et formeront, au bout du même temps et dans des vases d'égale profondeur, une couche plus épaisse à froid qu'à chaud. A la même température, la couche de crème sera proportionnellement plus épaisse dans un vase plus profond. Bref, on pourra observer de très grandes différences, dont le sens général est facile à prévoir quand on connaît le mécanisme du phénomène.

La crème, séparée du lait qu'elle surmonte par des procédés divers que nous n'avons pas pour objet d'examiner, aura donc une composition très variable, suivant la quantité de lait avec laquelle elle restera mélangée. De fait, il y a des crèmes qui renferment 18 p. 100 et d'autres 70 p. 100 de matière grasse. Admettons, ce qui ne s'éloigne pas beaucoup des conditions ordinaires, qu'on retire, de 100 parties de lait, 8 parties de crème et 90 parties de lait écrémé, ce qui correspond à une perte de 2 p. 100 par évaporation. Les expériences de

Muller ont donné la composition du sérum qui reste dans la crème et dans le lait maigre, par rapport à celle du lait normal. Enfin l'expérience montre, qu'en moyenne, il ne monte dans la crème qu'environ les quatre cinquièmes de la quantité totale de matière grasse du lait. Partant de ces données, on peut établir ainsi qu'il suit la distribution, entre la crème et le lait écrémé, des éléments du lait de composition moyenne que nous avons envisagé en commençant ce chapitre.

	Lait entier.	Lait écrémé.	Crème.
Eau	87,25	80,74	4,69
Matière grasse	3,50	0,70	2,80
Caséine	3,90	3,61	0,22
Sucre de lait	4,60	4,26	0,25
Cendres	0,75	0,69	0,04
	100,00	90,00	8,00

Ce qui conduit à la composition centésimale suivante

	Lait entier.	Lait écrémé.	Crème
Eau	87,25	89,70	58,63
Matière grasse	3,50	0,77	35,00
Caséine	3,90	4,02	2,75
Sucre de lait	4,60	4,74	3,12
Cendres	0,75	0,77	0,50
	100,00	100,00	100,00

De la crème ayant cette composition, lorsqu'elle est conservée quelque temps avant d'être soumise à l'opération du barattage, ne doit pas évidemment tarder à se corrompre. L'expérience montre en effet qu'elle s'aigrit, s'acidifie par suite de la formation d'acide lactique, devient le siège d'une fermentation qui en dégage des gaz odorants, et peut nourrir des productions diverses. Dans la profondeur de la masse demi-liquide, on trouvera presque toujours les êtres aérobies que nous avons décrits au chapitre précédent. Mais on y trouvera aussi fréquemmment des végétations superficielles dont une des plus répandues est celle que représente la fig. 105.

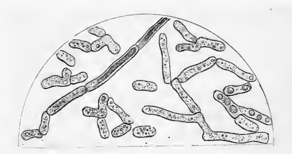


Fig. 105. — *Mucorée du lait et de la crème.*

C'est une sorte de mycélium souvent très développé, et formant même quelquefois une couche veloutée à la surface de la crème. Ce mycélium est formé d'articles qui s'allongent et qui, lorsqu'ils se sont suffisamment allongés, se cloisonnent de façon à se partager en deux parties inégales. La plus longue, la plus ancienne aussi, pousse au voisinage de la cloison un prolongement latéral. La plus courte, la plus voisine de l'extrémité, s'allonge dans le sens rectiligne et se comporte ensuite comme la première, de sorte qu'on a, au bout de quelque temps, un long filament plus ou moins segmenté et plus ou moins pourvu de prolongements latéraux qui sont rarement dichotomes eux-mêmes. La fig. 105 représente assez nettement cet aspect. Ce microbe vit aux dépens du sucre de lait ou de l'acide lactique. Il est surtout un agent de combustion. Il peut aussi s'attaquer à la caséine, et sécrète, pour cela, une caséase assez active. Nous le retrouverons dans la maturation de quelques espèces de fromages.

Il peut aussi se développer sur du liquide Raulin, dont il intervertit le sucre. Il sécrète donc aussi de la sucrase. Avec le glucose qu'il a formé, il peut prendre, plus facilement qu'avec aucune autre substance, une organisation et un mode de vie différent. Il peut vivre dans les profondeurs du liquide, y fournir une fermentation véritable, mais qui dure peu, parce que l'être est faiblement anaérobie et a besoin de retrouver bientôt le contact direct de l'oxygène. Ainsi qu'il arrive presque toujours dans les cas pareils, les longs filaments disparaissent et se divisent par des cloisonnements plus multipliés en une série d'articles qui se renflent, restent lâchement unis, et se séparent bientôt. Le liquide est alors rempli de globules oblongs, un peu plus gros que les globules de levure, dont quelques-uns, comme le représente la fig. 106, conservent encore des traces de la forme allongée primitive, mais où la forme ronde va en s'accusant de plus en plus. Cet être est un nouvel exemple de transition entre les mucédinées aérobies et les levures.

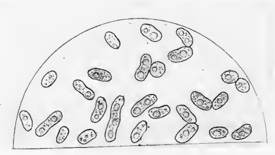


Fig. 106. — *Mucorée du lait, immergée.*

Les germes en sont abondamment répandus dans l'air de toutes les laiteries, et on comprend que la crème en reçoive. Leur développement est très rapide. Il n'y a pas d'autre moyen de les éviter que de tenir la crème au frais, et d'en séparer le plus tôt possible la matière grasse qui, bien lavée, n'a presque rien à craindre des végétations microscopiques. C'est à quoi on arrive au moyen du barattage.

Barattage. — La description des instruments dans lesquels s'effectue cette opération nous intéresse peu. Il nous suffit de savoir qu'ils ont tous pour objet de donner à la crème ou au lait, car on peut aussi baratter le lait, une série de chocs à la suite desquels la matière grasse devient cohérente et se prend en une masse unique, si les conditions sont favorables. Ce qui nous intéresse, c'est le mécanisme de l'action qui s'accomplit.

C'est une tradition dans les laiteries qu'il n'y a rien de plus capricieux que cette opération du barattage. L'âge de la crème, sa nature, la forme de la baratte, le niveau auquel on la remplit, la température surtout, celle de l'extérieur comme celle de la crème, y jouent un rôle quelquefois tellement actif que l'extraction du beurre devient tout à coup impossible. Quand on s'attache à rendre toutes les conditions identiques, on diminue les écarts, mais on ne les supprime pas. Il y a toujours une part à faire à l'imprévu.

Quand l'opération marche bien, on voit, au bout d'un quart d'heure ou vingt minutes, le lait devenir comme granuleux et se remplir d'une infinité de petites masses à peine visibles à l'œil nu : c'est la matière grasse qui commence à s'agglomérer. A partir de ce moment, la séparation du beurre se précipite, et quelques minutes, deux ou trois, suffisent à la terminer. Les petits granules se prennent en masses de la grosseur d'une tête d'épingle, puis d'un pois, puis, presque subitement, en deux ou trois paquets volumineux nageant au milieu d'un liquide encore très blanc et appelé lait de beurre. En continuant à battre plus longtemps on ne retire rien de plus de ce lait de beurre, et on risque de rendre visqueux et gluant le beurre obtenu. Il faut arrêter l'opération.

Trois problèmes principaux se posent à propos de ce barattage. D'abord, par quel mécanisme s'accomplit l'agglomération des globules gras primitivement isolés? Puis, pourquoi l'agitation, après être restée si longtemps sans effet apparent, aboutit-elle aussi vite à la séparation d'une masse compacte de beurre? Enfin, pourquoi laisse-t-elle, malgré tout, dans le lait de beurre, une aussi grande quantité de matière grasse que celle que nous verrons y exister?

Tout ceci s'explique avec l'hypothèse de la pellicule superficielle, en admettant que le travail dépensé en pure perte apparente à l'origine est employé à user par frottement ou à briser cette pellicule. Sitôt la matière grasse mise en liberté, elle s'agglomère rapidement, et il ne reste dans le lait de beurre que les globules dont la pellicule a résisté. Mais on ne s'explique pas ainsi pourquoi, en reprenant ce lait de beurre, on ne peut guère l'épuiser davantage, même au prix d'un barattage longuement continué.

Soxhlet fait jouer, comme nous l'avons vu, dans sa théorie du barattage, un rôle prépondérant à l'état de surfusion du beurre. Il s'appuie sur ce que de la crème, refroidie à 3 ou 4°, puis ramenée à la température de barattage, donne beaucoup plus vite du beurre que la même crème non refroidie, et barattée à la même température et dans les mêmes conditions. L'agitation, dans cette théorie, a d'abord pour effet de provoquer la coagulation du corps gras, et celle-ci une fois complète, l'agglomération se fait rapidement.

Cette théorie, qui ne fait aucun appel nécessaire à l'existence de la pellicule superficielle, explique bien deux des particularités de l'opération du barattage. Mais elle ne dit guère pourquoi le lait de beurre reste encore aussi riche en glo-

bules gras. De plus, elle ne permet pas de comprendre l'intervention d'une autre influence, que nous avons indiquée, et sur laquelle le moment est venu d'insister, celle de la température.

L'expérience a montré qu'il y avait pour chaque baratte, et presque pour chaque beurre, une température à laquelle l'opération réussissait mieux qu'à toutes les autres. M. Boussingault a fait voir qu'en débutant au-dessus de cette température *optima*, on pouvait battre indéfiniment le lait sans en retirer une parcelle de beurre. Quand on débute au-dessous, le beurre ne commence à *prendre* que lorsque le travail dépensé sur le liquide en a élevé la température au voisinage du point voulu. Il y a là une question de maximum qui ne s'explique guère si le phénomène est, comme dans les idées de Soxhlet, sous la dépendance unique d'un phénomène continu, comme celui de la solidification, et il semble, au moins *a priori*, que la prise du beurre devrait se faire d'autant plus vite que le lait est plus froid, si elle dépend, comme cause active, de la solidification des globules.

Cette température *optima* ne varie, dans chaque cas, que dans des limites très étroites, de 2 ou 3° tout au plus, ce qui est encore en désaccord avec la marge qui existe dans les températures de solidification ou de liquéfaction des corps gras. Elle est variable pour un même appareil suivant sa taille. Je me suis assuré que pour les plus petites barattes Fouju, il fallait battre la crème douce à 21°, avec les plus grandes, à 15 ou à 16°. Avec un même appareil, elle varie avec la vitesse de l'agitation. Enfin toutes choses égales d'ailleurs, elle est différente suivant la nature du liquide. Voici en effet, évaluées en gros, les variations de la température du barattage pour le lait ou la crème, telles qu'on peut les déduire des observations faites dans la grande pratique.

	Limites de température.		Température moyenne.
Lait doux.	7°,5 à	9°	8°
Crème douce.	11	15	13
Crème aigre	12 ,5	20	16
Lait aigri.	15	21	18

La matière grasse ne subit que de très loin le contre-coup des modifications qui se produisent dans le liquide qui la baigne. Une expérience de Von Baumhauer a du reste montré que l'état de neutralité, d'acidité, ou d'alcalinité faible d'un même lait n'a aucune influence sur la durée du barattage. Les variations dans la réaction du liquide sont donc incapables d'expliquer les variations des nombres inscrits dans le tableau qui précède, et il est important de faire, dans l'explication du barattage, une place à la constitution physique du liquide lui-même.

Ceci nous ramène aux phénomènes d'émulsion, où la constitution physique du liquide qui environne le globule joue un si grand rôle. Cette notion nous a permis d'éliminer la conception de la pellicule superficielle et d'expliquer sans elle pourquoi la crème montée à la surface ne se soude pas une masse unique. Elle nous permet de comprendre aussi l'effet du barattage. L'agitation communiquée au liquide lance les globules les uns contre les autres. Elle est surtout puissante lorsqu'il y a des chocs. Ces chocs soudent les globules, comme ils

soudent deux boules d'argile lancées l'une contre l'autre, et suppléent à la force de réunion, faible ou nulle quand les globules sont immobiles. Cette force de réunion varie à la fois avec la constante capillaire de la matière grasse et celle du liquide, ce qui fait entrer ce dernier en ligne de compte. Il faut, pour que l'opération marche bien, que la matière grasse ne soit pas trop solide et ait conservé un peu de plasticité. Ceci revient à dire que la température ne doit pas être trop basse. Il faut aussi que la matière grasse ne soit pas trop liquide pour qu'une fois agglomérée, elle ne se sépare pas de nouveau, et qu'un nouveau tour de baratte ne détruise pas ce qu'à fait le précédent. Ceci revient à dire que la température ne doit pas être trop élevée. Il y a une température moyenne où tout s'équilibre, et qui est variable avec la baratte employée, avec le degré et je dirais presque avec la forme de l'agitation qu'elle communique au liquide, c'est-à-dire avec sa forme intérieure, celle de ses palettes, leur longueur, la vitesse qu'on lui imprime, etc.

Le travail d'agglomération commence dès les premières minutes de l'agitation, ainsi que le montre l'observation au microscope, mais il est faible et passe inaperçu. On ne commence à l'apercevoir que lorsque les granules ont pris une grosseur visible à l'œil nu. A partir de ce moment, les masses auxquelles se communiquent les chocs sont plus grandes, les résistances qu'elles ont à vaincre plus grandes aussi, et l'opération marche vite. On s'aperçoit qu'il faut dépenser plus de travail, parce que les chocs intérieurs deviennent plus puissants.

Quoi qu'on fasse pourtant, on ne soude pas tous les globules. Il en reste qui, comme l'a montré M. Boussingault, sont précisément les plus petits, c'est à dire ceux qui, d'après les chiffres consignés p. 670, sont d'une composition différente de celle des autres, exigent une autre température de barattage, ou dont la force de réunion due aux effets capillaires est moins voisine d'être nulle que pour ceux qu'on a déjà soudés. De ceux-là, je me suis assuré qu'on pouvait encore extraire du beurre en changeant la composition du liquide, en le rendant neutre ou alcalin s'il était acide, en changeant sa température, ou plus sûrement en ajoutant de l'eau, ce qui ne change rien à la nature des globules, mais modifie seulement d'une façon sensible le liquide qui les entoure. Fait qui est bien d'accord avec l'explication donnée ci-dessus, le beurre retiré dans ces conditions est plus blanc, plus ferme et a un goût plus suiffeux que celui de la première opération, ce qui prouve qu'il est bien formé de ces globules que nous avons vus, dans l'expérience de Schroder, donner une matière grasse plus blanche et moins fusible que la crème normale. C'est au reste un fait bien connu que la crème de douze heures donne un beurre meilleur que la crème de vingt-quatre heures dans les mêmes conditions.

Le beurre qu'on retire de la baratte n'est pas compacte, et emporte avec lui une assez notable quantité de lait de beurre. Dans les pratiques actuellement en usage dans le nord de l'Europe, où existe un des centres de production beurrière les plus importants du monde entier, il n'est jamais mis en contact avec les mains ni avec l'eau. Il est pétri, malaxé, comprimé jusqu'à ce qu'il ne cède plus rien, salé ensuite et empaqueté pour être expédié. En Hollande et surtout en France, les beurres les plus fins s'obtiennent en faisant écouler de la baratte le lait de beurre au moment où les globules butyreux ont la grosseur d'une tête

d'épingle, et on lave à grande eau le beurre dans la baratte elle-même, jusqu'au moment où le liquide sort à peu près limpide. On enlève alors les mottes de beurre, on les laisse se raffermir dans l'eau fraîche, et, après un pétrissage exécuté généralement à la main, on leur donne la forme commerciale, différente d'un lieu à l'autre.

A cet état, le beurre contient encore des quantités d'eau variables. Sa composition moyenne, s'il n'a pas été délaité à l'eau, peut être représentée par les chiffres suivants :

	Valeurs moyennes.	Valeurs extrêmes.
Eau	14	8 à 18 p. 100
Matière grasse	84	80 90 —
Matières albuminoïdes	0,65	0,4 1,1 —
Sucre de lait	0,65	0,3 1,1 —
Cendres	0,2	0,1 0,2 —

Le lait de beurre a, d'un autre côté, la composition moyenne suivante :

Eau	91,24
Matière grasse	0,56
Matières albuminoïdes	3,50
Sucre de lait ou acide lactique	4
Cendres	0,70

Mais la teneur en matière grasse peut quelquefois atteindre 1 p. 100. De ces nombres on peut conclure que le lait moyen, dont nous avons donné la composition au commencement de ce chapitre, donnerait environ 3 p. 100 de beurre, correspondant à 2,5 p. 100 de matière grasse. Or, il en contenait 3,5 p. 100. Il y a donc une différence de 1 p. 100 environ, due à ce qui est resté dans le lait écrémé, ou dans le lait de beurre, ou à ce qui a été perdu dans les diverses manipulations.

Ce qui nous intéresse, c'est qu'il reste toujours dans le beurre des matières très altérables, en moins grande quantité dans les beurres délaités que dans les autres, mais toujours en quantité suffisante pour amener la détérioration du produit. Aucun lavage ne peut les éliminer complètement, parce qu'elles ne sont pas toutes liquides ou solubles. Il y a, par exemple, dans le lait de beurre, une grande quantité de pellicules de caséine solide, formée peu à peu dans le lait pendant l'écrémage par suite de l'évaporation, dans la crème par suite de l'acidification dont elle est toujours le siège. Cette caséine est empâtée par le beurre et y reste quels que soient les moyens de lavage employés.

On devine, d'un autre côté, que les germes d'êtres microscopiques ne doivent pas être rares dans cette substance, et que sous leur influence vont s'y produire, avec le temps, des phénomènes dont nous pouvons prévoir le sens général. Le sucre de lait donnera de l'acide lactique, la caséine et les matières albuminoïdes leurs produits de fermentation, parmi lesquels les plus sensibles à l'odorat seront l'acétate, le butyrate, le valérianate d'ammoniaque. Ces acides gras pourront être mis en liberté, et serviront à constituer l'odeur bien connue du beurre rance.

L'acide butyrique, qui y domine, ne provient pas tout entier de celui qu'y produisent les ferments. M. Chevreul a trouvé de la butyrine dans tous les beurres, et comme nous savons que sous l'influence prolongée des acides, comme sous celle des alcalis, se produit une saponification lente mais continue, nous pourrons avoir un dédoublement de la butyrine en acide butyrique et en glycérine qui, fermentant à son tour suivant les modes que nous avons appris à connaître, contribue à donner au produit une saveur et une odeur désagréables.

Enfin, à ces causes de destruction, nous pouvons joindre l'action latérale que les ferments du sucre ou des matières albuminoïdes exercent sur les matières grasses, lorsqu'ils vivent à leur contact. Les faits consignés au chapitre LVI nous renseignent suffisamment sur cette sorte d'action, et il est inutile d'y revenir.

La pratique a appris depuis longtemps à pallier une partie de ces inconvénients, d'abord en lavant les beurres aussi bien que possible, puis en y mélangeant intimement, par un pétrissage énergique, une dose convenable de sel, faible et impuissante si on l'envisage vis à vis de la masse entière, mais assez active quand on la suppose répartie sur les 15 p. 100 d'eau que renferme le beurre marchand. Cette pratique revient en effet à remplacer par une solution saline assez concentrée l'eau qu'on a été obligé de laisser dans la masse. Voici qui le prouve.

Un beurre, pétri sans eau suivant la méthode usitée dans le nord de l'Europe, a été additionné de 3, 5 p. 100 environ de sel sec, et bien malaxé. Après vingt-quatre heures de repos, on en a retiré, par un nouveau malaxage, 3, 64 p. 100 de son poids d'un liquide dont voici l'analyse.

Eau	77,38
Matière grasse	0,00
Matières albuminoïdes	0,32
Sucre de lait	3,13
Sel et cendres	19,17
	100,00

Il n'est pas douteux qu'une dissolution de sel à 19 p. 100 n'entrave beaucoup ou même n'empêche toute action des ferments. Mais nous avons vu que les matières fermentescibles du beurre ne sont pas toutes solubles dans l'eau. L'addition de sel est donc une précaution utile, mais insuffisante.

La fusion du beurre est un meilleur moyen de conservation, mais a l'inconvénient d'altérer le goût du produit. Il faut la faire au bain-marie, à aussi basse température que possible, et donner au liquide un repos suffisant pour qu'il laisse déposer sur le fond du vase une couche d'eau, au-dessus de laquelle nagent, en masses amorphes, les pellicules de caséine dont nous avons signalé la présence.

Enfin, on a cherché aussi à empêcher complètement l'action des ferments au moyen d'un antiseptique tel que le borax, l'acide borique ou l'acide salicylique. Comme nous verrons que ces corps n'agissent pas indistinctement sur tous les ferments, leur emploi laisse théoriquement à désirer. Pratiquement, ils semblent

donner d'assez bons résultats dans la grande majorité des cas, mais leur introduction soulève une question d'hygiène qui n'existe pas pour le sel, sur laquelle l'expérience n'a pas encore prononcé, et que nous n'avons du reste pas à aborder ici.

Koumys. — Notre étude sur le rôle que jouent les ferments dans les opérations si diverses de l'industrie laitière ne serait pas complète si nous n'y faisions entrer les quelques notions qu'on possède sur la fabrication du koumys, boisson légèrement alcoolique et acide, depuis longtemps en honneur chez les habitants nomades des steppes du sud de la Russie et de l'Asie centrale, les Kirghiz, les Baschkirs, les Kalmoucks, les Turcomans et les Mongols.

Cette boisson se prépare toujours au moyen du lait de jument, mais les moyens de l'obtenir paraissent variables d'une peuplade à l'autre. D'après Sudakewitsch, tous les procédés reviendraient à peu près à celui-ci. On mélange dans un vase du lait avec du vieux koumys, ou avec un dépôt de koumys séché au soleil, on agite bien pendant 15 minutes et on laisse reposer une nuit. Le lendemain on ajoute du lait frais, on agite avec soin et on recommence à plusieurs reprises, dans la journée, à agiter le liquide. On obtient ainsi, à la fin de la journée, un koumys faible qu'on décante dans un second vase, en en laissant un peu dans le premier. Sur ce résidu on ajoute de nouveau lait, on mélange, on agite, on laisse de nouveau une nuit de repos; le lendemain, après avoir ajouté du lait, on agite encore et fréquemment dans la journée. On agite aussi le koumys du second vase, mais sans y ajouter de lait. A la fin du troisième jour on a dans ce second vase du koumys de force moyenne, et dans le premier du koumys jeune. On décante dans un troisième vase la plus grande partie du koumys du second ; sur le résidu on verse le koumys du premier, et, dans ce premier vase, on recommence les opérations, de sorte qu'on a ainsi, à un même moment et d'une façon régulière, si la fabrication est continue, trois koumys de forces inégales.

On reconnaît là une suite d'ensemencements. Il est clair que si le koumys qui a servi comme point de départ renfermait un microbe spécial, ces pratiques si complexes ne peuvent avoir d'autre but ni d'autre résultat que sa multiplication. Lorsque la semence originaire manque, on peut se la procurer, d'après le Dr Jarotski, par le procédé suivant. A 250 grammes de levure on mélange 125 grammes de farine de froment, on pétrit le tout avec une cuillerée à bouche de miel, on délaye ensuite dans une petite quantité de lait frais, et on laisse le tout digérer une nuit dans un endroit chaud. On enveloppe ensuite la masse dans un linge, et on la place dans du lait frais. Après trois ou quatre jours, on peut se servir de ce lait pour mettre en train une préparation de koumys.

Ce qui nous intéresse dans cette opération, c'est de savoir quel en est l'agent. Bien que cette question ne soit pas encore élucidée complètement, nous allons pourtant nous rendre un compte assez exact de la transformation qui s'accomplit.

Voyons d'abord en quoi elle consiste au point de vue chimique. Les analyses, déjà assez nombreuses, faites sur le lait de jument permettent de faire pour lui ce que nous avons fait au commencement de ce chapitre pour du lait de vache,

d'en donner la composition moyenne, qu'on peut représenter par les chiffres suivants :

	Moyenne	Valeurs extrêmes
Eau	90,68	89,05 à 92,53
Matière grasse	1,17	0,12 2,45
Matières albuminoïdes	2,05	1,33 3,00
Sucre de lait	5,66	4,20 7,26
Cendres	0,44	0,28 1,20
	100,00	

On voit que ce lait est plus aqueux, moins riche en matières grasses et albuminoïdes que le lait de vache, mais un peu plus riche en sucre.

Rien ne nous autorise à croire que ce sucre ne soit pas du sucre de lait, qui subit très difficilement, comme nous le savons, la fermentation alcoolique. Cependant toutes les analyses de koumys, et la saveur même du liquide témoignent que, pendant la préparation, il se forme de l'alcool et de l'acide carbonique. Voici, en effet, quelques analyses de koumys faites par Biel sur des produits de provenance sûre.

	I	II	III	IV	V	VI
Acide carbonique libre ou combiné p. 100.	0,54	0,84	0,92	0,67	0,85	0,77
Alcool —	1,23	1,64	1,72	1,85	1,97	2,00
Eau. —	93,71	94,29	93,89	—	95,27	—
Sucre —	1,80	1,32	1,29	0,96	0,78	0,64
Acide lactique —	0,47	0,65	0,82	0,80	0,71	0,76
Matière grasse —	1,18	1,20	1,12	—	1,12	—
Matières albuminoïdes —	—	2,22	2,59	—	1,82	—
Cendres —	—	0,31	0,29	—	0,29	—

Ces nombres, comparés à ceux de la composition moyenne du lait de jument, conduisent à quelques conclusions.

On voit d'abord que la proportion d'alcool est toujours assez faible et que le sucre n'a complètement disparu dans aucun des échantillons. Il s'est toujours formé une petite quantité d'acide lactique.

La proportion moyenne de cet acide est de 1 p. 100, correspondant à la même quantité de sucre de lait. Il reste d'autre part, en moyenne, dans les koumys étudiés, 1,25 p. 100 de sucre de lait. Il en a donc disparu, en moyenne, 3,4 p. 100, devant donner, si la fermentation qu'ils ont subie est une fermentation alcoolique régulière, 1,7 p. 100 d'alcool. Or les analyses ci-dessus en indiquent une proportion moyenne de 1,8. L'alcool et l'acide carbonique sont donc produits à peu près dans la même proportion que dans le cas de la levure de bière agissant sur le sucre.

Cette conclusion, à laquelle nous conduit la discussion des chiffres fournis par des analyses faites en dehors de cette préoccupation, nous intéresse, parce que nous avons vu et prouvé, dans le courant de ce livre, que la levure de bière est sans action sur le sucre de lait.

Il est vrai que la formation d'alcool au moyen de ce sucre peut se produire en dehors de toute levure. Quelques-uns des ferments de M. Fitz peuvent faire fer-

menter le sucre de lait, *l'actinobacter polymorphus* du chapitre XLVIII le peut aussi; mais aucun de ces êtres ne donne une fermentation qu'on puisse rapprocher de celle de la levure pour les proportions d'alcool et d'acide carbonique.

Il faut donc qu'il y ait dans le koumys une levure capable de faire fermenter le sucre de lait. M. le Dr Landowski, qui a étudié au microscope une goutte de koumys à un état de fermentation avancé, y signale en effet des globules de levure mélangés à des articles courts de ferments lactiques, mais il semble les prendre pour des globules de levure ordinaire, ou du moins ne vise pas la contradiction qu'il y a entre les mots globules de levure et fermentation alcoolique du sucre de lait.

M. D. Cochin a constaté dans le koumys du commerce, préparé par une compagnie anglaise, sans doute au moyen de lait de vache additionné de sucre, et par conséquent d'authenticité douteuse, deux microbes, des globules de levure et un ferment en bâtonnet.

Le bâtonnet est analogue au ferment lactique et rend acide le sucre de lait. En outre, il paraît sécréter une diastase qui transforme ce sucre en un sucre assimilable par la levure.

Cette levure, à son tour, est analogue à la levure haute, sans lui être identique. Cultivée dans des liquides convenables, en profondeur et en faible surface, elle vient former un voile superficiel. Elle fait fermenter le sucre de canne comme la levure ordinaire, mais elle peut aussi faire fermenter le sucre de lait transformé par le bâtonnet qui l'accompagne dans les liqueurs.

Il serait utile de rechercher ce qui se passe dans le koumys d'origine, fait avec du lait de jument sans addition de sucre. On ne peut, en effet, conclure de celui qu'a étudié M. Cochin aux autres. Une différence les sépare. Les koumys bien préparés ne paraissent pas se coaguler lorsqu'ils sont laissés à l'air. Celui de M. Cochin se coagulait au bout de quelques heures.

Si la coagulation ne se produit pas dans les koumys d'origine, c'est sans doute pour deux raisons. La première est qu'elle a dû se produire pendant la préparation. Il est impossible qu'un lait contenant les quantités d'acide lactique libre signalées dans les analyses ci-dessus ne se coagule pas. L'agitation fréquente dont nous avons signalé la nécessité quand nous avons indiqué le procédé de préparation, a sans doute pour objet de produire l'aération de la liqueur, et en outre de diviser en très fins grumeaux ce caséum qu'on retrouve, en effet, sous forme de précipité très fin, dans les koumys de Tartarie.

Mais il y a, de la non-coagulation du koumys, une autre raison ; c'est qu'il est impossible qu'un liquide ainsi préparé soit exempt des ferments du lait, qui vont en transformer peu à peu, sous l'action du temps, la caséine en une substance incoagulable par les acides. On peut donc prévoir, *a priori*, qu'il y a dans le koumys de la caséine à l'état sous lequel nous savons que l'amènent les ferments, et c'est ce qui résulte des expériences de Dochmann, qui dans 1,000 parties de lait frais et fermenté de jument a trouvé :

	Lait frais.	Lait après 12h de fermentation.	Lait après 40h de fermentation.	Lait après 70h de fermentation
	—	—	—	—
Caséine	24,80	14,66	12,88	9,64
Albumine		3,02	2,03	1,20
Parapeptone syntonine.	—	4,88	8,40	6,88
Peptone	0,28	1,04	2,48	4,84
	25,08	23,60	25,77	22,56

Nous savons qu'il ne faut pas prendre au pied de la lettre les diverses dénominations données par M. Dochmann aux diverses matières albuminoïdes que les procédés de dosage, toujours très incertains, lui ont permis de distinguer dans le lait. Mais ce que ces nombres mettent bien en évidence, c'est l'augmentation graduelle, au fur et à mesure que la fermentation s'avance, de la portion de caséine transformée par la caséase des microbes.

BIBLIOGRAPHIE

BOUSSINGAULT. — Agronomie.
FLEISCHMANN. — *Das Molkereiwesen*, Braunschweigg, 1875.
HAMMARSTEN. — *Upsala Lœkare fœrenings fuhr*, IX, 1873.
A. SCHMIDT. — *Beitr. zür Kentniss der Milch.*, Dorpat, 1874.
SCHRODER. — *Milchzeitung*, 1874, p. 629.
WEIN. — *Uber die in Butterfett enthaltenen Fettsauren. Diss. Inaug.*, Erlangen, 1876.
SOXHLET. — *Untersuchunnen uber die Natur der Milchkugelchen und eine neue Theorie des Butterungs processes.* Nobbe's Landwirth. Versuchstat. 1876, t. XIX.
SUDAKEWITSCH. — *Ubersicht. Darstell. des Zustandes der Milchwirtschaft in Russland*, Saint-Pétersbourg, 1877.
VON TYMOWSKI. — *Zür physiol. und therapeut. Beudentung der Kumys.* Munich, 1877.
Dr LANDOWSKI. — Le Koumys. *Journal de thérapeutique*, 1874.
DOCHMANN. — Peptonisation des albuminoïdes dans le koumys. *Bied. Centralbl.*, 1882, p. 503.

CHAPITRE LX

PRINCIPES GÉNÉRAUX DE LA FABRICATION DES FROMAGES

Nous allons essayer d'appliquer à l'étude des fromages les notions théoriques que nous avons établies aux chapitres LVII et LVIII. Il y a à cela des difficultés que nous n'avons pas rencontrées lorsque nous avons voulu faire la même chose pour le vin ou la bière. Toutes les fabrications de vin ou de bière ont des ressemblances profondes qui permettent d'en indiquer les traits généraux. Rien n'est au contraire variable comme les procédés de fabrication des diverses espèces de fromages. On peut s'en faire une idée en remarquant qu'avec un liquide de composition beaucoup plus uniforme que les divers moûts de vin ou de bière, on arrive à des produits aussi différents que le parmesan, le gruyère, le fromage de Brie et le fromage à la crème.

L'étude scientifique des divers procédés de l'industrie fromagère est cependant possible, et nous en avons tous les éléments. Forcés de nous borner, dans un livre où il s'agit surtout de montrer le gros des phénomènes, nous n'envisagerons que trois espèces de fromages appartenant aux trois grandes divisions que l'on établit d'ordinaire dans cette série de produits, les fromages à pâte molle, les fromages à pâte ferme cuits, comme le gruyère, et les fromages à pâte ferme non cuits, pressés et salés. Ce sont ces derniers qui sont en ce moment les mieux connus. Leur fabrication est en outre assez compliquée, met en jeu plus d'actions diverses qu'aucune autre, et ses divers actes se retrouvent, à peine modifiés, dans la préparation d'une foule d'autres produits. Pour toutes ces raisons, nous allons l'examiner en détail, en rapprochant autant que possible ses diverses pratiques des raisons scientifiques qui les expliquent ou les déterminent. Quand cela sera fait, quelques mots nous suffiront pour caractériser d'une manière suffisante les deux autres fabrications, celles du gruyére ou des fromages affinés.

Fabrication du fromage du Cantal. — Toutes les fabrications de fromage ont pour caractère essentiel de séparer, par l'action de la présure, que nous connaissons déjà, le caséum de la masse de liquide qui le tient en suspension et en dissolution. Ce caillé coagulé forme une masse porcelanique de consistance molle, qui brisée et convenablement traitée, laisse évacuer son petit

lait, et donne ensuite, par soudure de ses divers éléments égouttés, une masse douée d'une consistance élastique et ferme. A cet état de gâteau compacte, il n'y a pas de nom français pour la désigner. J'emploierai pour cela le mot cantalien de *tome*, respectable par son origine ancienne et sa racine, qui est évidemment la même que celle du mot français tome, et rappelle l'idée de division.

La tome obtenue reste naturellement imprégnée de petit lait, avec tous ses éléments que nous savons si facilement altérables. C'est l'élimination de ce petit lait et la destruction de ses éléments fermentescibles, qui fait l'objectif principal et la difficulté de toutes les fabrications. Les unes ont recours à la chaleur, telle est par exemple celle du gruyère; d'autres à un égouttage plus ou moins parfait, telle la fabrication du brie; d'autres enfin, à des actions plus complexes, à des fermentations et à des modifications moléculaires. Telle est celle du cantal, dont nous allons examiner successivement les actes divers.

Coagulation du lait. — Le lait recueilli dans des vases de bois, où son refroidissement est très lent, est mis en présure à une température voisine de celle de la traite, et toujours voisine de 35°. Il est ensuite abandonné à lui-même pendant un temps, variable de trois quarts d'heure à une heure, au bout duquel sa température n'est que très rarement inférieure à 30°. Comme il est toujours, dès sa sortie du pis, habité par un grand nombre de microbes, dont il a rencontré les germes sur le pis lui-même, sur les mains du vacher, dans les vases à lait que leur nature empêche de nettoyer à fond, cette heure de repos, à une température très favorable, crée des conditions de multiplication des erments sur lesquelles nous aurons à revenir tout à l'heure.

La durée de la coagulation est variable. Elle dépend, comme nous le savons, d'une foule de circonstances dont on n'est jamais absolument maître. On reconnaît que le caillé est à point, lorsque en y enfonçant le doigt, on y détermine une fente à parois bien nettes, à bords bien aigus, et lorsque le doigt retiré ne laisse égoutter que du sérum incolore.

Il y a des inconvénients à ne pas attendre ce moment pour procéder au travail du caillé, on risque de laisser dans le sérum un peu de caséine non coagulée ; il y a des inconvénients à le dépasser trop, le caséum serait trop cohérent, et l'élimination du sérum deviendrait plus difficile.

Quand il est arrivé, on divise, dans le cantal, le caillé à l'aide d'un instrument en bois, appelé *frénial*, et on le réduit en tous petits grumeaux pour lui permettre d'expulser son sérum. Nous avons déjà dit que ces grumeaux, contractés et débarrassés du liquide qui les imprégnait, devenaient plastiques et pouvaient se souder les uns aux autres. Pour arriver à ce résultat, le vacher promène circulairement et d'un mouvement très lent, dans son vase cylindrique, une lame de bois mince dont la largeur est un peu moindre que le rayon du cylindre. Il pousse ainsi devant lui la masse du caillé, que la douce pression résultant du mouvement qu'on lui imprime transforme en une masse cohérente ; son volume diminue graduellement par suite de la soudure de ses divers éléments et de l'élimination du petit lait, et elle finit par former au fond du vase une sorte de gâteau élastique qui, mis à égoutter, malaxé à plusieurs reprises, et fortement comprimé avec les mains et les genoux, constitue ce qu'on appelle la *tome*.

Ce premier acte de la fabrication est celui qui, dans le cantal, est le mieux conduit. On ne peut qu'être frappé de voir l'habileté avec laquelle la pratique profite, au moment voulu, des propriétés si fugitives du caséum pour le séparer, à l'état compacte, d'une masse de petit lait dix fois plus considérable, et cela sans l'intervention d'aucun agent étranger. Le fabricant de gruyère n'arrive guère à un résultat meilleur, en employant la chaleur qui exalte à la fois les qualités contractiles et les qualités agglutinatives du caséum. Mais il faut reconnaître que ses opérations sont plus faciles et moins délicates, mettent moins en jeu l'habileté personnelle du fromager, assurent mieux la conservation du produit, et conduisent par suite à une fabrication plus régulière et mieux assise. Sous ce point de vue, elles sont incontestablement supérieures à celles du cantal.

Quoi qu'il en soit, la tome du cantal, travaillée comme nous l'avons dit, peut être considérée comme présentant la composition suivante sur cent parties :

Caséum	25
Beurre	25
Petit lait	50

Le beurre et le caséum sont à peu près en parties égales, ce qui s'explique quand on songe que le lait n'est pas écrémé. Mais ce qui doit surtout fixer notre attention, c'est que la masse est restée imprégnée de petit lait dans la proportion d'à peu près moitié de son poids.

Ce petit lait existe dans la tome avec tous ses éléments, et sa composition est évidemment identique, ou à peu près, à celle du petit lait évacué par la masse. On trouve dans celui-ci, en dehors de la matière grasse, que nous laissons de côté, des matières albuminoïdes et du sucre de lait. Les matières albuminoïdes sont d'abord la portion de caséine que la présure ne précipite pas, puis la petite portion de caséine que les êtres vivant dans la liqueur ont déjà transformée par l'action de leur caséase. La première est précipitable par l'acide acétique sous l'action de la chaleur, la seconde ne se précipite que sous l'action du tannin ou d'autres réactifs.

La première portion est variable et dépend de la nature des sels présents dans la liqueur. Les sels de chaux en diminuent la proportion, augmentent par conséquent le poids de la tome ; les sels de soude font l'inverse et enrichissent le petit lait. Il y aurait à faire, dans cette direction, des essais industriels intéressants.

La seconde portion est variable avec la nature de la présure et avec le degré d'invasion des êtres microscopiques. Certaines présures, même parmi les présures concentrées, contiennent aussi de la caséase, et redissolvent en partie le caillé qu'elles contribuent à former. Celles qu'on obtient par macération des caillettes de veau se peuplent rapidement d'êtres microscopiques qui la mélangent de caséase. On comprend que cette présure, riche en caséase et remplie de ferments, doit, toutes choses égales d'ailleurs, laisser, dans le sérum du lait où on l'introduit, une plus forte proportion de matière albuminoïde non coagulable, et ainsi s'explique le rendement, en moyenne plus grand, des extraits de présure livrés par le commerce et protégés par une forte proportion de sel

marin ou d'un autre antiseptique contre l'envahissement des infiniment petits.

En outre de la matière albuminoïde, dont la proportion est toujours supérieure à 1 p. 100 dans le sérum de la tome, il y a du sucre de lait qui paraît particulièrement tenace dans son adhésion avec le caséum ; un lavage à grande eau ne suffit pas pour l'extraire, et on n'y réussit pas mieux en soumettant à une forte pression la masse lavée. L'expérience montre qu'alors non seulement les eaux du pressurage sont plus riches en sucre que l'eau de lavage, mais encore que les dernières eaux qui s'écoulent sous l'action de la presse sont plus chargées que les premières. Le caséum retient donc le sucre avec énergie, et il en reste toujours dans la tome une certaine quantité, variable avec la nature du lait, avec la façon dont l'opération a été conduite, et que j'ai vu atteindre quelquefois le chiffre de 4 p. 100 ; ce qui revient à dire que, dans ce cas, le sucre s'était concentré dans la tome.

C'est ce sucre qu'il faut d'abord faire disparaître, à cause de la facilité avec laquelle il donne, sous l'action des infiniment petits, des produits acides qui seraient gênants pour la maturation du fromage. On y arrive dans le cantal, par un moyen original qui conduit assez bien au résultat voulu, et en outre, met en train le phénomène de maturation. Ce moyen, c'est la fermentation préliminaire de la tome.

Fermentation de la tome. — Une fois séparée et convenablement égouttée, la tome est abandonnée à elle-même, dans un vase de bois fermé par un couvercle, à une fermentation spontanée dont les agents sont les êtres microscopiques qu'elle renferme. Cette fermentation est favorisée par la proportion de sérum que la tome a conservé et qui y rend la vie des microbes très facile, par le degré assez grand de chaleur qui lui reste, par celle qu'elle trouve dans le vase où on l'entrepose, et où l'on a la précaution de conserver toujours quelques gâteaux en fermentation,

Le sucre de lait est le premier atteint. Une portion est brûlée intégralement par les réactions vitales des aérobies. Une autre partie est tranformée en acide lactique qui lui-même ne reste pas à cet état. Les sels alcalins du lait en saturent une partie. Une fermentation purement butyrique en remplace une autre fraction par une proportion plus faible d'acide butyrique ; enfin, l'excédant reste libre, et communique à la masse une réaction acide. Mais à raison des causes de disparition de l'acide que nous venons de signaler, la proportion qui reste dans la pâte est toujours inférieure à celle qu'aurait pu donner la quantité de sucre primitivement présente. J'ai trouvé des tomes fermentées régulièrement et renfermant 3 p. 100 d'acide lactique. Mais d'ordinaire la proportion ne dépasse pas 4 à 5 millièmes, dont une partie sort sous l'action de la presse, dont l'autre va être saturée peu à peu par les produits alcalins de la fermentation du caséum.

Le caséum subit en effet, dans cette première partie de l'opération, et sous l'influence de ses ferments dont nous connaissons quelques-uns, des transformations qui ne sont jamais très profondes, mais dont l'importance n'en est pas moins considérable, ainsi que nous allons le voir.

Ces ferments déposent d'abord dans la pâte des doses sensibles de caséase, qui

sont en trop faible quantité pour agir de suite et même pour modifier d'une façon apparente la couleur de la pâte, si la fermentation préliminaire ne dure pas plus de 1 à 2 jours. Mais nous savons que, pour la caséase au moins, l'influence du temps peut compenser, dans une large mesure, la faiblesse des doses. De très petites quantités de cette diastase peuvent, au bout de quinze jours, d'un mois, de deux, produire le même effet que des doses plus fortes en huit ou quinze jours. Les phénomènes d'oxydation, qui contrarient l'action de la présure, sont beaucoup moins à craindre avec la caséase, ou parce qu'elle est moins sensible à l'action de l'oxygène, ou parce qu'elle agit ici dans une masse où ce gaz n'existe pas en quantités sensibles.

Pratiquement, l'expérience montre qu'on peut obtenir un commencement de maturation en pressant cette tome après la fermentation préliminaire, et en y amenant ainsi une dessiccation suffisante pour y rendre impossible une action ultérieure des infiniment petits.

Il n'est même pas besoin d'une preuve pareille. La tome qui a subi la fermentation préliminaire est restée blanche et n'a pas pris la couleur jaune du fromage qui a mûri. Mais bien que son aspect autorise à la croire intacte, elle n'en a pas moins subi une transformation moléculaire remarquable.

Lorsqu'on vient de la retirer du lait, c'est une masse blanche, craquante sous la dent, sèche au toucher. Soumise à l'action de la presse, elle laisse suinter de l'eau, et peut être ainsi amenée facilement à n'en renfermer que 20 ou 25 p. 100. Si on la presse plus fort, elle laisse échapper une partie de sa matière grasse. Si on la broie entre les mains et sous l'eau, c'est à peine si l'on peut recueillir, à la surface du liquide, une légère couche de beurre que le caséum retient, comme on voit, assez fortement. Enfin, si l'on chauffe l'eau qui tient en suspension le caillé, on voit que les fragments s'en soudent difficilement ensemble. Même à une température de 80 à 85° C., la plasticité du caillé reste toujours médiocre.

Au bout de quelques jours, et après la fermentation, la pâte est devenue jaunâtre, plus onctueuse et plus liante. Elle est humide et laisse suinter de l'eau à la moindre pression. Mais on ne lui enlève facilement ainsi que tout ce qu'elle renferme en sus d'une proportion à peu près constante, qui est de 44 ou 45 p. 100. Si l'on essaye, en la comprimant davantage, d'en extraire plus d'eau, on ne retire que de la matière grasse, dont l'adhésion avec le caséum a évidemment diminué. Elle se sépare aussi beaucoup plus facilement lorsqu'on malaxe la tome sous l'eau. Enfin, les propriétés plastiques et agglutinatives de la tome ainsi modifiée sont devenues beaucoup plus marquées, et à 50° la tome devient filante comme le produit bien connu sous le nom de pâte de guimauve, dont elle a un peu l'aspect nacré.

Il est évident qu'elle a subi une modification moléculaire profonde, attestée par le renversement presque complet de ses affinités pour l'eau et la matière grasse. On pourrait dire, en forçant un peu l'expression, que dans la tome parvenue à maturité, il y a environ 45 p. 100 d'eau combinée, toute celle qui se trouve en excès sur ce chiffre pouvant être éliminée très facilement par l'action de la presse. Comme confirmation, beaucoup de fromages du Cantal présentent des teneurs en eau voisines du chiffre qui précède. En voici des exemples :

Fromage de Cuelhes (bonne qualité)	44,2	p. 100 d'eau.
— Cuelhes (pâte grisâtre)........	44,2	—
— Salers.................	44.8	—
— Salers.................	44,0	—
— Fau..................	44,7	—

Grâce à cet ensemble de phénomènes, la pâte possède maintenant, même à la température ordinaire, un liant dont le fromager profite pour en fabriquer une pièce compacte. Il triture entre les mains les gâteaux de tome mûrs, de façon à les diviser en petits fragments, saupoudre le tout de sel, et range la masse mélangée, par assises superposées, dans un moule en bois qui, une fois plein, est soumis à l'action de la presse.

L'eau qui s'écoule alors entraîne avec elle un nombre prodigieux d'êtres vivants ayant pris part à la fermentation préliminaire, mais elle ne les entraîne pas tous. Il en reste beaucoup, retenus dans le réseau solide de la pâte où ils sont enchevêtrés. La plus grande partie des diastases qu'ils ont sécrétées restent aussi, retenues mécaniquement par la matière albuminoïde, en vertu de ces phénomènes d'adhésion moléculaire dont nous avons parlé. Diastases et ferments vont continuer à agir dans la pâte, et en produisent peu à peu la maturation que nous allons maintenant étudier.

Faisons pourtant remarquer, avant de terminer, le rôle important de cette fermentation préliminaire dans la fabrication du fromage du Cantal. En soumettant à la presse de la tome égouttée récente, on obtient encore du fromage, mais qui mûrit lentement, seulement par la surface, conserve plus d'eau pour la même pression, parce que la modification moléculaire que nous indiquions plus haut ne s'y est pas produite, reste plus exposé aux boursouflements et aux fausses fermentations, et ne prend jamais le goût convenable. La fermentation donne une masse facile à presser à un degré voulu, toujours à peu près le même, ensemencée de microbes et imprégnée de diastases dans toute sa masse. La maturation peut s'y faire également en tous les points. Le danger est qu'elle soit trop prompte et n'amène trop tôt le fromage à cette période, par laquelle ils passent tous, où après avoir possédé un maximum de qualités, ils commencent à décliner. C'est ce dont nous allons nous convaincre en étudiant la maturation.

Maturation des fromages. — Nous savons et pouvons indiquer d'avance les conditions générales de maturation d'un fromage quelconque sous l'action des ferments. Nous savons que la caséine initiale doit se transformer peu à peu en substances solubles dans l'eau, et qu'elle fournit d'abord, uniquement sous l'action des diastases, ces matières de constitution très voisine de la sienne et qu'on peut appeler des peptones. A ces produits de l'action des diastases viendront se joindre d'autres produits plus ou moins élaborés par les êtres vivant dans la pâte, et dont la liste ira des matières solubles dans l'eau et l'alcool, et qu'on appelle *extractives*, aux sels ammoniacaux à acides gras et même au carbonate d'ammoniaque, en passant par des produits azotés cristallisés, tels que la leucine et la tyrosine. Les diverses espèces de fromages diffèrent entre elles par la nature et la proportion de ces éléments constituants. Les premiers

dominent dans le gruyère, chez lequel même une portion de la caséine est intacte, ainsi que le prouve la propriété, si recherchée chez lui, de *filer* dans l'eau chaude. Les seconds dominent dans les fromages affinés. Dans le fromage du Cantal, les deux sortes de produits sont mélangées en proportions voisines. Mais un fromage quelconque changera de type, et ses consommateurs ordinaires trouveront qu'il prend mauvais goût, lorsqu'une circonstance quelconque modifiera la proportion de ses éléments constituants ou en changera la nature. On devine avec quel soin doivent être suivis, tant dans le laboratoire que dans l'industrie, des phénomènes de fermentation d'un caractère à la fois aussi éventuel et aussi instable que ceux que nous avons à étudier.

Cherchons d'abord quelle est la composition de la tome après la fermentation préalable. Quand on vient de la préparer, elle ne cède pas à l'eau plus de 1/2 à 1 p. 100 de matière soluble. Sa presque totalité est formée de caséum insoluble, de matières grasses et d'eau, dans les proportions indiquées page 685. Mais après la fermentation il y a déjà des changements sensibles. Voici, par exemple, les résultats de l'analyse d'une tome âgée seulement de deux jours, mais gardée en vase demi-clos près du feu, et où le gonflement de la pâte et le nombre des vacuoles témoignaient d'une fermentation très énergique.

Eau	40,7	—
Matière grasse	30,1	51,4
Caséine	20,0	34,2
Albumine	4,1	7,0
Matières solubles dans l'eau bouillante	4,3	7,4
Sel marin	0,8	—
	100,0	100,0

On voit que le tiers de la caséine environ a déjà disparu en tant que caséine, et a été transformé soit par l'action des diastases, soit par celle des ferments, en matières solubles dans l'eau froide, parmi lesquelles celles qui se précipitent par chauffage sont séparées au tableau précédent sous le nom d'albumine, sans qu'il faille du reste ajouter à ce nom une signification plus précise.

Les fromages arrivés à maturation doivent présenter une composition analogue à la précédente, mais où la transformation de la caséine est encore plus avancée. Voici, en effet, les résultats de l'analyse de fromages du Cantal de bonne qualité.

	Fromage de Salers.	Fromage de Cuelhes.	Fromage de Cuelhes.
	—	—	—
Eau	44,8	44,2	44,2
Matière grasse	22,5	24,0	25,2
Caséine	12,4	15,0	13,7
Albumine	10,5	6,6	7,8
Matières solubles dans l'eau bouillante	7,5	7,1	7,0
Sel marin	2,2	3,1	2,1
	100,0	100,0	100,0

En considérant la proportion notable de matière grasse, en remarquant que la caséine, matière insipide et insoluble dans l'eau, cède de plus en plus le pas

à une albumine soluble et à des produits sapides et odorants, on s'explique très bien à quoi les fromages mûrs doivent leur demi-transparence, leur mollesse, leur propriété de fondre dans la bouche, leur sapidité. Mais d'un autre côté, les matières qui prennent naissance pendant la maturation régulière du fromage sont douées d'une telle action sur les organes du goût et de l'odorat qu'elles peuvent rendre le fromage immangeable, rien que par une exagération de leurs proportions, et comme leur production est continue, la pondération dont nous parlions plus haut entre les divers éléments du goût du fromage se détruit peu à peu. Le fromage le meilleur, le plus régulièrement mûri, devient peu à peu trop fait, trop fort, suivant les cas, tout en restant sain, pour la majorité des consommateurs.

Maladies du fromage. — La vieillesse est donc une des maladies du fromage, en prenant ce mot dans le sens que nous sommes conduits à lui donner. Mais cette maladie arrive à son époque, et elle joue dans le commerce un rôle prévu, beaucoup moins redoutable que ces maladies qui envahissent les fromages avant même qu'ils ne soient bons pour la vente, et se manifestent soit par de l'amertume, soit par des boursouflements dans la pâte, soit par une odeur désagréable ou tout autre défaut. Ces maladies sont toujours dues à l'intervention d'infiniment petits autres que ceux qui font la maturation. Ébauchons-en l'étude. Les résultats que nous obtiendrons ne seront pas particuliers aux fromages du Cantal et s'appliqueront à tous les autres.

On peut se faire en peu de temps une idée de la puissance des transformations chimiques qu'amène en fin de compte la fermentation du fromage, en abandonnant à l'étuve, dans un vase à moitié clos, une masse de caséum pressé, où vont agir en liberté les êtres microscopiques qu'elle a apportés avec elle.

Un fromage ainsi préparé s'est montré au bout d'un mois formé de deux parties absolument différentes d'aspect et de propriétés, l'une extérieure, molle et blanchâtre, l'autre intérieure, grisâtre et compacte, comme au sortir de la presse. Au microscope, on trouvait la couche superficielle pénétrée dans toute son épaisseur par des ferments divers. Le noyau, au contraire, en était à peu près exempt, sauf dans quelques fissures par lesquelles commençait son envahissement. Pour avoir une mesure des transformations accomplies par ces êtres microscopiques, il n'y a qu'à comparer la composition chimique du noyau et de la couche externe avec celle du gâteau initial.

Voici quels ont été les résultats obtenus :

	Masse initiale.	Masse fermentée. Intérieur.	Surface.
Matière grasse	46.7	44,6	71,0
Caséine	50,7	42,8	6,7
Albumine	0,7	3,2	2,3
Matières solubles dans l'eau bouillante.	1,9	9,4	20,0
	100,0	100,0	100,0

On voit, par la comparaison de ces nombres, quelles transformations profondes résultent de la présence des ferments. Aux différences qui apparaissent

dans ce tableau, il faut même en ajouter d'autres qui n'ont pu y être inscrites. Ainsi ce qui est compté comme matière grasse n'était pas identique dans les trois échantillons. Dans les deux premiers, l'éther qui avait servi à la dissoudre restait parfaitement limpide; dans le dernier, il coulait trouble, et entraînait avec lui un fin précipité flottant, mélange d'une substance albuminoïde et d'un savon alcalin. Dans le premier échantillon, la proportion de matière grasse saponifiée était en effet insensible, de 3 p. 100 environ. Elle était de 2,2 p. 100 dans le second échantillon, et atteignait 42,8 p. 100 dans la troisième.

Rôle de la matière grasse. — C'est la première fois que nous rencontrons devant nous la matière grasse, et il n'est pas hors de propos de préciser le rôle qu'elle joue soit pendant la maturation, soit dans les maladies du fromage.

Dans un travail dont les conclusions dépassent de beaucoup la portée des faits observés, M. Blondeau a cru montrer que la caséine atteinte par la fermentation ou sous l'influence des mucédinées, se transformait en matière grasse. Plus tard, M. Brassier a trouvé qu'au lieu d'augmenter par suite de la maturation en présence des cryptogames, la matière grasse diminuait.

Je ne peux pas affirmer que cette dernière observation soit inexacte. Dans l'infinie variété des êtres microscopiques qui peuvent envahir un fromage, il peut y en avoir qui attaquent la matière grasse et donnent raisons aux conclusions, d'ailleurs consciencieuses, de M. Brassier. Mais je n'ai jamais rencontré d'êtres pareils, et dans toutes mes expériences la matière grasse n'a subi que des variations de proportions insignifiantes. En revanche, partout et toujours, elle a éprouvé une saponification plus ou moins avancée.

Ce phénomène commence dans la tome dès les premiers moments de sa préparation. Dans le lait et dans la tome fraîche, aucune portion de la matière grasse n'est saponifiée. Mais la transformation commence aussitôt qu'apparaissent les ferments, et augmente d'autant plus que leur intervention est plus active. C'est ce que montrent les nombres suivants, qui donnent la proportion d'acides gras formés pour 100 de matière grasse, dans divers produits :

Tome tout à fait récente	0,04
Tome âgée de 5 jours, fermentée	0,55
Tome âgée de 8 jours, fermentée	2,33
Fromage de la tome précédente au bout de deux mois, non fermenté dans l'intervalle	3,00
Fromage du Cantal (ferm. défectueuse)	3,2
Matière grasse du fromage précédent, non lavée et rancie, au bout d'un mois	9,2
Fromage de Salers (goût amer)	8,8
— — (bon goût)	3,0
Fromage fermenté (étudié plus haut)	42,8

La proportion de matière grasse saponifiée peut donc quelquefois s'élever très haut. De là résultent diverses conséquences.

Au point de vue analytique d'abord, cette saponificatiom se traduira par une perte en matière grasse, lorsqu'on séparera celle-ci par l'action de l'éther, qui

ne dissout que très difficilement la glycérine. Cette perte sera faible, à cause de la prédominance pondérale de l'acide gras dans le corps gras, mais elle ne sera pas insensible. M. Blondeau, dans ses analyses, aurait donc dû observer une diminution de la proportion de matière grasse. S'il a observé le contraire, c'est sans doute, comme semblent le prouver les détails qu'il donne sur ses expériences, parce qu'il a laissé ses fromages exposés à l'air, où ils ont subi une combustion plus ou moins avancée et une diminution de poids correspondante, laquelle, à raison de la stabilité de la matière grasse, a porté de préférence sur la caséine. Il a dû rencontrer alors des phénomènes de l'ordre de ceux que nous avons vus se produire il n'y a qu'un instant. Les nombres inscrits page 690, envisagés en bloc, conduisent, si l'on ne prend pas garde à leur vraie signification, à l'idée de la transformation de la caséine en matière grasse, mais nous savons qu'on n'a pas le droit de les interpréter ainsi. En réalité la matière grasse a subi, sous l'influence de l'alcalinité de la masse du fromage, une saponification qui en change un peu la constitution, qui en change très peu la composition centésimale, et sa quantité totale n'a subi d'autres variations que celles qui résultent de cette saponification, poussée en effet très loin dans le cas étudié, mais qui reste d'ordinaire tout à fait insignifiante.

La modification de goût qui résulte de la saponification disparaît toujours derrière celles qui résultent de la présence des acides volatils. Les deux influences marchent du même pas dans le phénomène de maturation, mais la seconde est toujours prédominante. Il n'est pas besoin de beaucoup d'acides volatils pour rendre un fromage impropre à la vente. Dans un fromage tout à fait avarié, je n'ai trouvé, par kilogramme, que 2gr,15 d'acides volatils formés de 1gr,63 d'acide butyrique et 0gr,52 d'acide acétique.

Presque toujours, ces acides volatils s'accompagnent d'acide valérianique, plus fortement et aussi désagréablement odorant que l'acide butyrique. Dans un fromage à pâte très sèche et à goût détestable, j'ai trouvé 4 grammes par kilogramme d'un mélange d'acide butyrique, d'acide valérianique et d'acide acétique, où le premier entrait environ pour les 3/4 et les deux derniers chacun pour 1/8.

On reconnaît là les acides qui sont produits par les microbes que nous connaissons le mieux, et on voit que nous ne trouvons dans l'étude des fromages mûrs ou avariés, rien qui ne soit d'accord avec ce que nous savons sur la physiologie des êtres qu'ils renferment.

Les fromages contiennent en résumé, mélangées en proportions diverses, deux catégories de produits, ceux qui sont formés sous l'action des diastases, très alimentaires mais dépourvus de goût, ceux en bien moindre quantité, provenant des réactions vitales des ferments, et qui sont le condiment de la masse alimentaire de tout à l'heure. La matière grasse n'est que très médiocrement intéressée dans le phénomène de la maturation, dont le gros s'accomplit en dehors d'elle. Si certains fromages deviennent coulants, ils le doivent bien plus à la transformation subie par le caséum qu'à leur richesse en matière grasse qui aide, il est vrai, au phénomène, mais ne le produirait pas à elle seule.

Comme on a pu s'en apercevoir, la fabrication précédente est assez complexe pour avoir mis en jeu presque toutes les actions qui interviennent dans la pré-

paration des diverses espèces de fromages. Nous y avons trouvé une fermentation à l'air libre et à l'humidité comme celle que vont nous présenter les fromages affinés, une fermentation en pièces moulées et pressées comme celle du gruyère. Quelques mots seulement vont nous suffire à marquer ce que ces deux sortes si différentes de fromage ont de particulier dans leur préparation ou leurs propriétés.

Fromages affinés. — Quand il s'agit de fabriquer des fromages à pâte molle et affinés, on ajoute peu de présure, de façon à avoir une durée de coagulation très longue. La pâte du caséum reste ainsi très molle et très perméable. Pour ne pas lui enlever ces qualités, on la laisse quelquefois se former d'elle-même, par rétraction, au sein de la masse du petit lait. Dans tous les cas, lorsqu'on la sépare de ce liquide, elle en reste beaucoup plus imprégnée que ne l'est la tome du cantal. On la laisse se ressuyer lentement le mieux possible, sur de la paille ou dans des vases appropriés, et on la met toujours en épaisseur très faible, de façon à assurer la pénétration facile de l'air à la surface et dans l'intérieur de la masse. Cette fabrication met en effet surtout en jeu des ferments aérobies. Comme ils produisent plus rapidement du carbonate d'ammoniaque que les autres, l'élimination complète du sucre de lait du sérum n'est pas nécessaire. Les produits acides de ce petit lait sont bientôt masqués par les sels ammoniacaux fournis par les ferments. Les fromages, aprés avoir été d'abord acides, finissent toujours par devenir alcalins.

L'invasion par les ferments se fait à l'origine dans toute la masse, mais ceux qui vivent à la surface, bactéries ou mucédinées, prennent bientôt le dessus. Ils sécrètent des diastases qui pénètrent peu à peu le caséum parallèlement aux surfaces exposées à l'air, de sorte qu'on voit une couche jaunâtre et translucide gagner de plus en plus l'intérieur du fromage, en chassant vers le centre la couche blanche et opaque du caséum primitif. Ce qui diffère d'un fromage à un autre, c'est la nature des êtres chargés de sécréter ces diastases et d'accomplir la maturation. L'habileté du fabricant consiste à utiliser toujours la même espèce ou les mêmes espèces, celles qui, depuis des siècles, fabriquent le type qu'il veut reproduire, et à n'en pas laisser d'autres s'implanter dans son atelier.

Généralement, quand la fabrication marche bien, les germes utiles ont une grande avance sur ceux qui pourraient être nuisibles. Ils imprègnent les vases, l'air, le sol et les agrès de la fromagerie, les vêtements des fromagers. Leur ensemencement est spontané, et une longue pratique, je devrais dire une longue routine, a appris à les entourer des conditions de température et d'humidité les plus favorables à leur développement. Mais tous ces organismes sont très délicats, et si un jour ces conditions font défaut, même temporairement et à l'insu de tous, l'espèce active est exposée sinon à périr, du moins à laisser la prédominance à une espèce voisine, incapable de produire la maturation ou de la produire dans le sens voulu. Le fabricant dit alors que sa cave est *malade*, il n'a souvent d'autre ressource que d'abandonner pour un certain temps sa fabrication, et de la reprendre pendant la saison de l'année où son industrie marche spontanément le mieux. On voit là tout le secret de ces accidents, si fréquents dans les caves de maturation. On voit aussi combien il serait facile ou de les

éviter, ou bien de les guérir, si l'on connaissait bien pour chacune des espèces actives, car il y a souvent deux ou trois qui se succèdent les unes aux autres, les conditions les plus favorables d'existence et développement.

Parmi ces espèces, il en est de très souvent utilisées, que je n'ai pas visées spécialement dans l'exposé qui précède, mais dont il est nécessaire de dire quelques mots : ce sont les mucédinées ou moisissures qui ne vivent pas complètement englobées dans la masse du fromage. Elles enfoncent seulement dans la pâte leur mycélium, leurs filaments nutritifs, et poussent au dehors, sous forme de végétation quelquefois touffue et luxuriante, leurs organes de fructification. A côté d'elles on peut placer les êtres analogues à ceux que nous avons étudiés p. 672, assemblages de cellules autonomes, chez lesquelles les organes de nutrition et de fructification sont confondus, mais qui, comme les mucédinées, vivent à la surface des fromages, où elles forment des masses plus ou moins glaireuses.

Tous ces êtres sécrètent aussi en proportions variables une diastase présure, et une caséase, identiques toutes deux à celles des ferments. Il n'y a donc pas à s'étonner de les voir être souvent des agents de maturation, mais on peut deviner aussi qu'ils seront plus délicats que les autres, parce que vivant à la surface, ils éprouvent plus facilement et de plus près toutes les variations dans la température et l'humidité. Les fabrications qui les emploient, et elles sont nombreuses, seront donc, toutes choses égales d'ailleurs, plus chanceuses que les autres. Il est curieux de voir les pratiques souvent étranges, les bizarreries dans la constitution ou l'aménagement des fromageries, auxquelles on a été conduit pour donner à ces végétations superficielles le milieu qui leur convient le mieux.

Leur manipulation est d'autant plus délicate qu'elles n'ont pas toujours les mêmes besoins, et que, de plus, deux ou trois espèces doivent souvent se succéder les unes aux autres, pour chacune desquelles il faut des conditions différentes de milieu, de température et d'humidité. Une des plus curieuses sous ce rapport est le *penicillium glaucum* qui sert à fabriquer le fromage de Roquefort, le fromage de Pontgibaud, et beaucoup d'autres. Elle doit d'abord être cultivée à basse température, autant que possible au voisinage de zéro, non parce que c'est la température qui lui convient le mieux lorsqu'elle est seule, mais parce que c'est dans ces conditions qu'elle redoute le moins l'envahissement d'autres espèces, et surtout des vibrioniens, doués de propriétés différentes. De là l'utilité des caves froides. De plus, le fromage n'est pas pour elle un terrain très favorable; elle sécrète peu de caséase, et a de la peine à se créer autour d'elle les matériaux solubles favorables à son développement. De là l'utilité des ensemencements, et même des ensemencements copieux, comme on les réalise en effet avec du pain moisi. Enfin lorsqu'on veut, et c'est toujours le cas, que la fructification ait lieu à l'intérieur de la pâte de façon à y amener la saveur voulue et le bleuté caractéristique, il faut y faire pénétrer de l'air, mais en petite quantité pour ne pas rendre la combustion et la destruction trop rapides. De là l'ancienne pratique qui consistait à transpercer le fromage avec des aiguilles à tricoter, pratique que la Société actuelle des caves de Roquefort a imitée et régularisée au moyen de la petite machine qui lui permet de cribler, en une seule fois, la pâte du fromage de centaines de trous percés de part en part.

On voit, en résumé, que pour les fromages affinés, il y a une relation étroite entre les pratiques de fabrication, et les propriétés des espèces actives qui amènent le ramollissement de la pâte. On voit aussi que pour ces produits il y aura un terme qu'il ne faudra pas dépasser, un degré de maturité au delà duquel la qualité du fromage baissera, parce que la proportion des produits diastasiques et des produits des ferments ne sera plus ce qu'elle doit être. On pourrait croire au premier abord qu'on ne rencontre ni les mêmes difficultés, ni les mêmes périls dans la fabrication des fromages à pâte dure. Nous allons voir qu'il n'en est rien.

Fromages à pâte dure. — Prenons comme exemple la fabrication du gruyère. Il n'y a rien de particulier à dire au sujet de la mise en présure et du rompage du caillé. Toute la difficulté de la fabrication est dans la cuisson du caillé, qui vient ensuite, parce qu'il y a à éviter, sans que le fromager en ait conscience, deux écueils également dangereux.

Pour le comprendre, il faut savoir que la pâte caséeuse est destinée à être immédiatement mise en moule et portée sous la presse. Il faut pour cela qu'elle ait perdu la plus grande partie de son sérum, et c'est à quoi on arrive en chauffant à une température voisine de 50°, ce qui exalte la faculté contractile du caséum, lui permet d'expulser le liquide qui l'imprègne. Mais la faculté agglutinative se trouve exaltée aussi, et si les grumeaux étaient trop gros, ou si le chauffage était trop rapide, ils se couvriraient à leur surface d'une couche élastique et imperméable qui empêcherait la sortie facile du sérum. De là l'utilité de chauffer lentement et de brasser constamment, de façon à ce que le *le grain se fasse bien.* Quand l'opération est réussie, les grumeaux qui nagent dans le liquide ont une couleur tirant sur le jaune. Ils ne se soudent pas eux-mêmes sous la pression de la main. Ils résistent à la pression de la dent, et s'émiettent quand on les mâche.

Quoi qu'on ait fait, ils renferment encore un peu de sérum et, par suite, de sucre de lait, dont on ne peut se débarrasser qu'en l'abandonnant en pâture aux espèces inférieures. Parmi celles-ci, il y en a qui sont purement aérobies et dont le rôle est très restreint; mais il y en a qui sont à la fois aérobies et anaérobies et ressemblent plus ou moins à l'*actinobacter* du chapitre XLVIII. Cet actinobacter est lui-même, comme je m'en suis assuré, fréquemment présent. Dans tous les cas, ces espèces ont pour caractères communs: 1° de produire des dégagements gazeux plus ou moins abondants, tant qu'elles rencontrent autour d'elles, les conditions de température et d'humidité nécessaires; 2° de vivre aux dépens du sucre de lait et de la caséine; 3° de sécréter des caséases peu actives, mais capables d'agir si on leur laisse le temps suffisant pour cela; 4° de périr sous l'action de la chaleur à des températures en général très peu élevées, parce qu'elles sont à l'état adulte, ou au moins de souffrir assez de l'application de cette chaleur pour ne pouvoir reprendre aussitôt après, si elle a été trop forte, leur vie ordinaire. Avec la connaissance de tous ces faits expérimentaux nous pouvons nous rendre compte de la cause des difficultés que je signalais tout à l'heure.

Si en effet le fromager ne chauffe pas assez, il laisse trop de sérum, trop de

sucre de lait pas conséquent, d'où, sous la presse, une fermentation active et la production de vacuoles confluentes, ou d'une infinité de petits yeux dans la pâte. Le fromage est alors dit *mille trous* et perd beaucoup en valeur. Si au contraire on a trop chauffé, la pâte est trop sèche et mûrira difficilement, parce que les microbes vont avoir de la peine à y vivre, il n'y a pas de fermentation sous la presse ; le fromage est dit *mort*.

Avec une cuisson bien faite, on a des vacuoles sans en avoir trop. Une fois le sucre de lait disparu, les ferments peuvent encore vivre quelque temps dans la pâte, leurs diastases peuvent au moins continuer à la pénétrer et à amener lentement sa maturation. « En général, dit M. Schatzmann, plus la cuisson s'effectue à une température élevée et convenablement progressive, plus le fromage qui en résulte est ferme et de conserve, mais aussi plus il lui faut de temps pour mûrir. Le contraire a lieu pour les produits provenant de cuissons à températures trop basses. » Ces indications d'une pratique séculaire sont, comme on peut le voir en y réfléchissant un peu, en accord parfait avec celles que fournit la théorie que je développe en ce moment.

BIBLIOGRAPHIE

Duclaux. — Mémoire sur le lait. *Annales agronomiques*, 1877, 1878, 1879, 1880, 1881, et *Annales de l'Institut agronomique*, 1882.
Pouriau. — *La Laiterie*, 2e édition, 1882.
Fleischmann. — *Das Molkereiwesen*. Brunschweigg, Wieweg et fils.

CHAPITRE LXI

FERMENTATION DE L'URÉE

Nous avons vu les ferments que nous avons étudiés aux chapitres LVII et LVIII donner, en dehors de produits azotés complexes dont la fermentation a été implicitement étudiée dans ces chapitres, des matériaux cristallisés susceptibles de fermenter, et dont, pour rester fidèle à notre programme, nous devons examiner les procès de décomposition jusqu'à leur transformation intégrale en eau, acide carbonique et ammoniaque.

De ces corps, l'urée est celui dont les modes de fermentation sont les mieux connus. C'est aussi celui qui a la plus grande importance, parce qu'il représente la forme d'élimination de l'azote la plus puissante, sinon la seule du règne animal. Cette urée, inassimilable pour les plantes, ne laisse rentrer ses éléments dans la circulation générale qu'après leur conversion en carbonate d'ammoniaque, et cette conversion, comme nous allons le voir, est tout entière l'œuvre des ferments. C'est dire que nous allons rencontrer devant nous des phénomènes d'une grande importance théorique et pratique.

Fermentation de l'urée. — On sait depuis bien longtemps que l'urine s'altère après quelques jours d'exposition à l'air, et on s'est borné jusqu'au commencement de ce siècle à étudier les apparences extérieures de ce phénomène, à savoir : la fétidité qui l'accompagne, la grande quantité d'ammoniaque qui s'y produit et l'abondante précipitation de phosphates qui en est la conséquence, sans le rattacher à la composition même du liquide. Lorsque les travaux de Rouelle (1773), de Cruishank (1798) et de Fourcroy et Vauquelin, eurent appris à connaître l'urée, il devint facile de voir que c'était cette matière qui était atteinte par la fermentation, car, simplement bouillie avec un alcali, elle dégageait de l'ammoniaque. L'équation exacte, vainement cherchée par Vauquelin, suivant laquelle a lieu le phénomène, a été fixée en 1830 par M. Dumas, qui fit voir que l'urée, en s'assimilant deux molécules d'eau, devenait du carbonate d'ammoniaque.

$$C^2H^4Az^2O^2 + 4HO = 2(AzH^4O, CO^2).$$

Mais sous quelle influence s'opérait cette transformation dans l'urine putré-

fiée ? C'est ce qu'on ne savait pas d'une façon bien nette. Fourcroy et Vauquelin avaient attribué vaguement le rôle de ferment à la matière albumineuse de l'urine. Un des élèves de M. Dumas, Jacquemart, qui, à l'instigation de son maître, entreprit en 1843 une série d'expériences à ce sujet, fit voir que le dépôt des urines altérées était le plus actif des agents de décomposition. Mais il ne songea pas à déterminer le mode d'action et la nature de ce ferment, qu'il regardait comme une matière amorphe et morte. Bien mieux, il croyait que beaucoup de substances albuminoïdes, la colle-forte, la levure de bière, l'urine filtrée sur son dépôt, étaient aussi capables que ce dépôt, quoique à un degré moindre, de provoquer la décomposition de l'urée. Muller (1860) ajouta de nombreux détails à l'observation fondamentale de Jacquemart sur l'activité particulière du sédiment des urines putréfiées, mais ne songea pas davantage à en faire l'étude microscopique, et s'il en parle comme d'un ferment organisé, c'est par analogie avec la levure de bière.

M. Pasteur a, le premier, montré que le ferment de l'urée était ici, comme ailleurs, un être organisé. Dans son mémoire sur les générations dites spontanées, il signale la présence, parmi les productions organisées de l'urine qui se putréfie, d'un micrococcus en chapelets de très petits grains, toutes les fois que la liqueur est devenue ammoniacale par la transformation de l'urée. « Je suis porté à croire, ajoute-t-il, que cette production constitue un ferment organisé, et qu'il n'y a jamais transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque, sans la présence et le développement de ce petit végétal. Cependant, mes expériences sur ce point n'étant pas achevées, je dois mettre quelque réserve dans mon opinion. » Ces réserves ont dû disparaître à la suite d'un excellent travail de M. Van Tieghem, qui prouva l'existence constante de ce petit végétal, toutes les fois que l'urée fermente, et la corrélation intime qui lie son développement, facile ou pénible, à la transformation rapide ou lente de l'urée.

Ce végétal est formé de globules sphériques, fig. 107, dont le diamètre est voi-

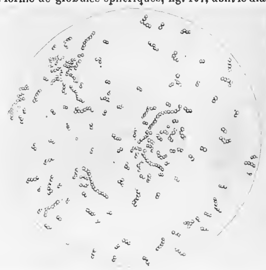


Fig. 107. — *Ferment de l'urée*

sin de $0^{mm},0015$, réunis en longs chapelets à courbures élégantes, qui remplissent tout le liquide pendant que la fermentation suit son cours. Quand celle-ci est terminée, les chapelets se rassemblent au fond et se brisent : aussi, examiné dans un dépôt un peu ancien, le ferment se présente-t-il en courts chapelets ou en petits amas de globules. Dans les chapelets en voie de développement, les globules des extrémités sont souvent plus petits que leurs voisins. D'autres fois, sur trois globules réunis, celui du milieu est plus gros que les autres et paraît leur avoir donné naissance. Les globules restent d'ailleurs à toute époque parfaitement sphériques, leur développement se fait donc par bourgeonnement. La lumière les influence d'une façon curieuse, car les dépôts floconneux du ferment se font tous sur la paroi la plus directement éclairée des flacons où l'urine fermente.

On peut, pour se procurer ce petit ferment, exposer simplement de l'urine à l'air. Diverses productions y prennent naissance parmi lesquelles il est bien rare de ne pas trouver le végétal cherché. Voici comment M. Van Tieghem décrit les phénomènes qui se produisent alors : « Dans le cas, exceptionnellement réalisé, où cette torulacée se développe seule, le liquide reste limpide, la fermentation est prompte, et le dépôt qui se forme au fond du vase est exclusivement constitué par les chapelets et les amas de globules, mêlés aux cristaux d'urates et de phosphate ammoniaco-magnésien. Si la torulacée n'est accompagnée que d'infusoires, ce qui est le cas le plus général, la fermentation, quoique un peu ralentie, est encore facile; mais s'il apparaît, outre les infusoires, des productions végétales dans le liquide et à sa surface, la torulacée se développe péniblement et la transformation est très lente, le liquide pouvant rester acide ou neutre pendant des mois entiers. Si, au lieu d'abandonner l'urine aux chances variables qu'y introduit l'ordre d'apparition des germes de l'air, on la place à l'étuve dans un flacon bouché, en y ajoutant une trace du dépôt d'une bonne fermentation, toutes les variations accidentelles disparaissent, et le phénomène s'accomplit toujours de la même manière : un à deux jours suffisent pour que l'urée disparaisse, et en même temps la torulacée se développe seule, car le nouveau dépôt en est exclusivement formé. »

On peut, en semant ce ferment dans une dissolution artificielle d'urée dans l'eau de levure, ou bien dans de l'eau ordinaire additionnée de phosphates, montrer que son action est tout à fait indépendante de la présence de l'urine où il vit d'ordinaire. Il se développe dans l'eau de levure aussi facilement que dans un liquide naturel; il végète plus péniblement dans un liquide minéral, mais peut y provoquer encore la transformation complète de l'urée. Il est curieux de le voir vivre dans des liqueurs qu'il a rendues fortement alcalines. M. Van Tieghem a vu une fermentation se continuer jusqu'à ce qu'il y ait eu dans le liquide 13 p. 100 de carbonate d'ammoniaque. A ce degré de concentration, la liqueur tue toutes les cellules végétales avec lesquelles elle est mise en contact, et exerce sur la peau, et à plus forte raison sur la muqueuse de la vessie, une action saponifiante et irritante très sensible.

Ce ferment n'est d'ailleurs pas particulier à l'urée et à l'urine des animaux carnivores.

A côté de l'urée se trouve, dans l'urine des animaux herbivores, un corps

azoté de constitution analogue, et dont la présence constante caractérise cette classe : c'est l'acide hippurique. Comme l'urée, il se dédouble par l'ébullition, avec les acides et les alcalis, en deux composés plus simples, acide benzoïque et glycolammine, en fixant les éléments de l'eau. C'est d'ailleurs un fait connu que, pendant la fermentation de l'urine, l'acide hippurique se transforme en acide benzoïque, en même temps que l'urée devient du carbonate d'ammoniaque. Ces deux phénomènes de dédoublement qui se passent dans le même milieu s'accomplissent-ils sous l'influence d'un seul et même ferment, ou chacun d'eux a-t-il son ferment spécial? L'étude microscopique des productions organisées de l'urine des herbivores exposée à l'air prouve que le micrococcus de l'urée y est seul constant, et qu'il y prend un développement qu'il n'atteint jamais dans l'urine des carnivores; chaque goutte du liquide est remplie de ses globules.

Il est donc naturel de penser que le ferment qui dédouble l'urée opère un dédoublement analogue sur l'acide hippurique, et c'est en effet ce qu'a montré l'expérience. Cet acide se transforme en acide benzoïque et en glycolammine, suivant l'équation,

$$C^{18}H^9AzO^6 + 2HO = C^{14}H^6O^4 + C^4H^5AzO^4$$

et il est remarquable qu'aucun de ces produits n'a le caractère irritant que possède le carbonate d'ammoniaque, produit de la fermentation de l'urée.

Quel est maintenant le mécanisme de cette transformation? Il n'est pas douteux qu'une portion de la matière organique ne serve à la construction des globules du ferment, et bien que le poids de celui-ci soit tout au plus le 1/200 de l'urée détruite, tous ses matériaux hydrocarbonés et azotés sont empruntés à la substance fermentescible. Ce ferment se comporte donc comme tous les ferments organisés que nous avons étudiés jusqu'ici. Pourtant, à la suite d'une série d'observations curieuses et exactes, mais inexactement interprétées, M. Musculus avait été conduit à refuser au ferment de l'urée les propriétés qui caractérisent les ferments organisés, et à le rapprocher au contraire des diastases, telles que celles de la salive et du suc pancréatique. Il avait observé, en effet, qu'en précipitant par l'alcool les urines épaisses, filantes et ammoniacales, rendues par les malades atteints de catarrhe de la vessie, il obtenait un précipité muqueux, qui lavé, desséché, puis pulvérisé et ajouté à de l'eau tenant en dissolution de l'urée, la transformait au bout de très peu de temps en carbonate d'ammoniaque. Ce corps actif est détruit ou mis rapidement hors d'état d'agir par la présence des acides minéraux. Parmi les acides organiques, les acides tartrique, acétique, salicylique, agissent comme les acides minéraux, l'acide phénique est sans action.

MM. Pasteur et Joubert ont fait disparaître la contradiction qui existait entre les résultats de M. Van Tieghem et ceux de M. Musculus, en montrant que la transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque pouvait être en effet réalisée par une diastase, mais que la production de cette diastase exigeait la présence de la petite torulacée ou pour mieux parler, la présence d'un être vivant. Il serait étonnant en effet, avec ce que nous savons des diastases, qu'il n'y eût que le ferment en chapelets capable de sécréter celle-ci, et nous verrons bien-

tôt qu'en effet il y en a d'autres. Mais avec le ferment de l'urée, il est curieux de voir l'être vivant borner en quelque sorte sa fonction à la production de la diastase.

« Les physiologistes, ajoutent MM. Pasteur et Joubert, feront sans doute la remarque qu'on a ici le premier exemple d'un ferment organisé, autonome, cultivable dans les liquides quelconques, sous la seule condition que ceux-ci soient propres à sa nutrition, et pouvant former pendant son développement une matière soluble susceptible de déterminer la transformation même que l'être microscopique engendre. » La diastase de l'orge n'est pas formée par des cellules autonomes ; il en est de même de la pepsine, de la synaptase, des diastases du pancréas. Toutes sont produites par des cellules, faisant partie d'organismes élevés, dont la vie générale et les fonctions ne sont pas concentrées dans la sécrétion de ces diastases. La levure de bière produit une diastase, inversive du sucre de canne, mais indépendante de la fonction de la levure, tout au moins quand celle-ci s'exerce sur les glucoses proprement dits, où l'inversion est sans objet. En d'autres termes, la fonction de la diastase inversive des levures alcooliques ne se confond pas avec la fonction de ces levures. Il n'en est pas ainsi de la diastase de l'urée. Diastase et ferment organisé agissent de même sur leur matière fermentescible, c'est-à-dire sur l'urée, parce que la diastase soluble présuppose l'existence de l'être organisé, et qu'inversement le petit végétal donne lieu pendant sa vie d'une manière nécessaire à la diastase qui hydrate l'urée.

Il est probable toutefois que, si la petite torulacée que nous venons de décrire nous intéresse surtout par la propriété qu'elle a de transformer l'urée en carbonate d'ammoniaque, sa vie physiologique ne se résume pas tout entière dans la sécrétion de la diastase nécessaire pour cela. Comme pour toutes les espèces dont nous connaissons bien l'histoire, cette diastase est plutôt pour elle une sécrétion digestive, un moyen de se préparer une matière assimilable aux dépens des matériaux qu'elle rencontre dans la liqueur, que le terme définitif de ses actions comme ferment. On a le droit de penser aussi, en partant du même ordre d'idées, que la torulacée de M. Pasteur n'est pas la seule espèce capable de sécréter la diastase de l'urée, puisque toutes les autres diastases peuvent provenir de la vie physiologique d'une foule d'espèces diverses. Sous ce point de vue, ces idées ont reçu une confirmation par les travaux de M. Miquel.

Autres ferments de l'urée. — M. Miquel a en effet observé et décrit deux autres espèces vivantes, capables de se développer dans l'urine, et de la rendre alcaline à la façon de la torulacée décrite plus haut.

L'un de ces êtres est un *bacillus* très ténu, dont la largeur est inférieure à 1μ, qui se développe en longs filaments dans l'urine en la rendant trouble, mais ne semble pourtant pas y trouver un terrain favorable, car au bout de quelques jours, il s'y dissocie, sans donner d'ordinaire de spores. Ses articles se remplissent de granulations punctiformes, incapables de produire une nouvelle fermentation. Les spores, quand on en obtient, sont assez vivaces, et résistent plusieurs heures à une température humide de 96°.

Ce bacillus peut amener en quarante-huit heures la fermentation complète

d'un volume quelconque d'urine. Il peut donc vivre dans un liquide fortement alcalin. Toutefois il ne semble pas résister à cette réaction alcaline aussi longtemps que la torulacée de M. Pasteur, et c'est sans doute à l'action désorganisatrice du carbonate d'ammoniaque qu'il a fourni, qu'il faut attribuer en partie sa mort rapide dans les conditions que nous indiquions tout à l'heure.

Ce bacillus n'a pu être cultivé dans un liquide minéral, ni dans le bouillon non additionné d'urée. Il est anaérobie, mais peut aussi prendre naissance dans des liquides exposés à l'air. M. Miquel l'appelle *bacillus ureæ*, mais la diagnose de cet être reste encore un peu incertaine.

Un autre ferment de l'urée est une mucédinée de la famille des Aspergillus, qui pousse dans l'urine un mycélium volumineux d'où sortent des tubes fructifères à têtes légèrement renflées et portant une seule chaîne de spores incolores. Ces spores ont entre 6 et 7^{μ} de diamètre, et on peut les voir, quand elles sont en grand nombre, formant au-dessus de l'urine des trainées denses, d'apparence farineuse.

L'action de cette moisissure sur l'urée est loin d'être aussi prompte et aussi complète que celle des êtres qui précèdent, mais elle peut cependant aboutir à la disparition de 8 à 10 grammes d'urée par litre. Lorsque la quantité d'urée transformée en carbonate d'ammoniaque atteint 5 à 6 grammes par litre, la moisissure dépérit. C'est le même phénomène que pour les autres, mais il se produit plus tôt.

Ces trois ferments sont constamment présents dans l'air, mais en quantités différentes suivant les lieux, et en proportions inégales. Le micrococcus de M. Pasteur est de beaucoup celui qu'on rencontre le plus fréquemment, puis vient le *bacillus ureæ*, enfin la moisissure blanche. A l'intérieur de Paris, les ferments ammoniacaux sont bien plus fréquents qu'à la campagne. Ce fait, qui résulte de l'observation de M. Miquel, n'a pas le droit de nous surprendre. Là où il y a beaucoup d'urée doivent se multiplier les causes de sa disparition.

Pénétration des ferments de l'urée dans l'organisme. — Nous pouvons maintenant aborder la solution d'une question soulevée par l'observation de M. Musculus, que nous avons rappelée plus haut. A quelle cause peut-on attribuer la réaction alcaline de l'urine de certains malades atteints de catarrhe de la vessie, et l'existence de la diastase que M. Musculus a su en retirer ?

Rien ne dit *a priori*, remarquons-le, que l'organisme réduit à ses seules forces ne puisse pas sécréter soit régulièrement, soit d'une façon intermittente, une diastase transformant l'urée en carbonate d'ammoniaque. Il en sécrète bien d'autres, continuellement ou à de certains intervalles, et il ne serait pas surprenant d'y rencontrer celle-ci. Mais il ne s'agit pas de savoir ce qui peut être, il s'agit de savoir ce qui est. L'expérience, consultée à ce sujet, a répondu que toutes les fois qu'une urine était ammoniacale au moment de son émission, elle contenait des cellules vivantes, et même qu'elle contenait toujours le *micrococcus* en chapelets décrit plus haut. C'est ce qui résulte d'observations multipliées faites par M. Pasteur, et MM. Gosselin et Alb. Robin. Il est bien entendu

que nous parlons d'urine ammoniacale et non d'urine alcaline, car une urine peut devenir alcaline, soit régulièrement dans certains modes d'alimentation, soit passagèrement, par exemple sous l'influence de l'ingestion de sels alcalins et sans renfermer de ferment, en conservant même une parfaite limpidité.

Sans doute, l'affirmation au sujet de la présence constante de la petite torulacée n'a rien d'absolu. Rien ne prouve qu'il ne puisse pas exister et qu'on ne découvrira pas plus tard, soit une formation pathologique de cellules dans l'organisme, soit un mode de fonctionnement des cellules normalement baignées par l'urine, qui pourrait rendre celle-ci alcaline en dehors de la présence d'un ferment autonome. Il n'en est pas des sciences d'observation comme des mathématiques, et la démonstration rigoureuse d'une négation n'est pas plus possible ici qu'à propos de la génération spontanée. Mais il nous suffit pour le moment qu'on n'ait jamais vu une urine devenir ammoniacale en dehors de la présence d'un ferment dont l'ensemencement peut amener la même transformation dans une urine nouvelle, et qu'on a dès lors le droit d'accuser de l'avoir produite dans la vessie.

Comment a-t-il pu y pénétrer? Sa génération spontanée est évidemment hors de cause. Y voir le résultat d'une transformation normale ou pathologique de matériaux de l'organisme, tels que mucus, cellules épithéliales, globules de sang ou de pus, ou encore le produit d'une métamorphose régressive d'un tissu quelconque, c'est chercher dans le monde des chimères en abandonnant volontairement celui des réalités. MM. Cazeneuve et Livon ont montré du reste que, dans une vessie liée chez l'animal et extraite ensuite à l'aide d'une vivisection, l'urine se conservait sans jamais s'altérer, soit qu'elle fut acide ou alcaline, alors même que par des lésions convenables faites à l'animal, on l'avait rendue artificiellement albumineuse, sucrée, sanguinolente ou purulente.

Tous ces faits, et la présence constatée des ferments ammoniacaux dans l'air, nous conduisent à penser que les micrococcus rencontrés dans la vessie de certains malades proviennent de l'extérieur. C'est la première fois que nous rencontrons, dans la série de nos études, ce fait de la pénétration possible d'un ferment autonome dans l'organisme. Comme nous voulons faire de ce livre tout entier une sorte de préparation et de préface à l'étude des maladies contagieuses et virulentes produites par les ferments, il n'est pas hors de propos d'examiner dans ce cas très défini et d'une étude très facile, les voies de pénétration des microbes dans l'organisme, les facilités ou les difficultés qu'ils rencontrent dans leurs tentatives de colonisation, les désordres qui peuvent naître de leur présence et de leur multiplication.

Il est clair d'abord que si les microbes viennent de l'extérieur, c'est par le canal de l'urèthre qu'ils pénètrent dans l'organisme. Ce canal est fréquemment parcouru par de l'urine. Ses parois ne sont jamais complètement ressuyées. Il débouche dans l'air, il y a fréquemment à son orifice des microbes en plein développement, sa température est convenable, voilà bien des conditions réunies pour y faciliter la multiplication des ferments. Si, de plus, il est le siège de quelques lésions, si par suite d'une autre lésion dans le système urinaire, l'urine s'écoule d'une façon lente et continue, quoi de plus naturel d'admettre que la fermentation s'y transmet de proche en proche jusqu'à la vessie. Ce ne sont

pas les chapelets du micrococcus qui parcourent individuellement le canal, comme un chemin de fer parcourt un tunnel, c'est la prolifération des cellules qui en envahit peu à peu les parois, et finit par envoyer une colonie jusque dans la vessie.

Cette colonie se sera pas toujours formée de ferments de l'urée. Elle pourra être faite de ferments de matières albuminoïdes, qui vivront dans l'urine comme ils vivraient dans du bouillon, et pourront n'y amener aucun désordre capable de retentir dans l'organisme. J'ai actuellement, sous les yeux, un exemple pareil. L'urine pourra être trouble, putride même au moment de son émission, si ce sont des êtres anaérobies qui ont pénétré, mais même alors, elle pourra n'être la source d'aucune maladie sérieuse. Elle ne le deviendra d'ordinaire qu'avec les ferments de l'urée, qui transformant cette substance inactive en carbonate d'ammoniaque, communiquent à l'urine des propriétés irritantes qui se traduisent à leur tour par une irritation de la muqueuse, une production de pus, bref par cet ensemble de symptômes qui servent au médecin à diagnostiquer un catarrhe de la vessie.

A ces causes naturelles de pénétration, nous pouvons ajouter maintenant les causes accidentelles. Lorsque le traitement des maladies de la vessie exige l'emploi du cathéter, c'est presque toujours la sonde du chirurgien, en général brillante de propreté extérieure, mais très impure au point de vue des germes, qui les apporte dans l'organisme. Une observation ancienne due à M. Traube démontre avec évidence la possibilité de ce mode de contamination. Un malade souffrant depuis deux ans d'une affection vésicale, et non soumis dans cet intervalle au cathétérisme, donnait des urines acides et limpides. On emploie un cathéter. Aussitôt l'urine se trouble et on y rencontre des ferments. Six jours après l'urine était alcaline, et au bout de neuf jours, un sédiment purulent venait témoigner de l'action irritante exercée sur la muqueuse vésicale par le carbonate d'ammoniaque résultant de la fermentation.

Mais si les voies de pénétration possible sont bien celles que nous venons d'indiquer, pourquoi cette pénétration n'est-elle pas plus fréquente ? Puisqu'il y a toujours des germes à l'extrémité du canal de l'urèthre, pourquoi ne remontent-ils pas plus souvent dans la vessie ? Si jusqu'ici, on n'a pris aucune précaution sérieuse contre la présence des êtres microscopiques dans les sondes, pourquoi tout cathétérisme de la vessie n'est-il pas suivi, sinon de l'alcalinité, tout au moins du trouble des urines ?

A cela on pourrait répondre, d'abord, que les urines se montrent fréquemment peuplées de microbes après l'introduction d'une sonde salie. Elles passent pour des urines seulement troubles, et on ne s'en préoccupe pas davantage, lors qu'aucun désordre sérieux ne survient et qu'elles redeviennent spontanément limpides après quelques jours. On ne s'en inquiète que lorsque l'être qui les peuple les rend alcalines et produit une maladie de vessie. Ce cas particulier est plus rare que l'autre, parce que les ferments de l'urée sont rares dans l'air, au regard des familles nombreuses de bactéries et de ferments qui ne transforment dans l'urine que la matière organique.

D'ailleurs, si le jeu des forces naturelles suffit à permettre la pénétration dans la vessie des germes qui tapissent d'ordinaire l'extrémité du canal uréthral, il

existe d'autres actions naturelles qui s'y opposent. D'abord, chez l'individu dont l'urèthre n'est affecté d'aucune lésion, et qui est sain lui-même, le jet d'urine nettoie le canal à chaque miction. Puis tous les êtres qui vivent à l'orifice ne s'accommodent pas des conditions de milieu et d'aération qu'ils pourraient trouver dans les profondeurs. Enfin toutes les urines ne se peuplent pas et ne fermentent pas avec la même facilité, même lorsqu'elles sont sorties de l'organisme. On connaît des espèces de microbes qui ne peuvent vivre dans ce liquide, et l'ensemencement même du ferment ammoniacal reste quelquefois infécond dans des vases de verre. Dans la vessie, ces cas doivent se présenter aussi, et on n'a pas le droit de s'étonner par suite, que dans quelques-unes de leurs expériences, MM. Feltz et Ritter n'aient pas réussi à rendre ammoniacale l'urine de certains animaux, même après avoir introduit dans leur vessie des sondes volontairement couvertes de ferments.

Il y a donc, de la part de l'urine, à l'intérieur ou en dehors de la vessie, une certaine résistance à l'invasion. A quoi est-elle due? Examinons d'un peu près ces cas d'ensemencement infécond, d'inoculation mal réussie. Ils sont ici plus faciles à interpréter qu'ailleurs. L'urine dans la vessie peut être considérée comme virtuellement séparée de l'organisme, et les causes de son infertilité sont par suite moins de l'ordre physiologique que de l'ordre des forces physico-chimiques.

La plus puissante est même de l'ordre des faits du sens commun. Nous savons, sans que nous puissions dire toujours exactement pourquoi, que tous les liquides ne sont pas également propres à assurer la vie et surtout la fécondité de toutes les espèces microscopiques. L'urine est dans cette situation pour beaucoup d'entre elles, et pour peu qu'une circonstance quelconque y retarde le développement des êtres qui tentent de s'y implanter, il est facile de prévoir qu'elle se défendra victorieusement contre eux. L'évacuation régulière à laquelle elle est soumise, la sécrétion constamment renouvelée de liquide pur, la débarrassent quelquefois, nous l'avons dit plus haut, des ferments qu'elle renferme. Comme les conditions requises pour la naissance et le premier développement de ces microbes sont plus étroites que celles dont peut s'accommoder leur vie, on comprend sans peine que des causes en apparence insignifiantes puissent arrêter la colonisation à ces débuts.

Prenons par exemple, la torulacée de M. Pasteur, qui est la mieux connue. Elle aime, nous l'avons dit, l'air et la lumière. Elle n'en trouve pas dans la vessie. L'acidité gêne sa prolifération, L'urine est fréquemment acide. Lors même que les germes du micrococcus auraient pénétré dans la vessie, ils pourront, on le comprend sans peine, être beaucoup retardés dans leur développement, et être évacués dans les mictions successives. Par contre, chez un autre animal dont l'urine serait normalement ou passagèrement alcaline, ils pourront au contraire, s'implanter d'une façon durable. On pourra donc, suivant la nature de l'animal, et son état au moment de l'expérience, voir celle-ci échouer ou réussir.

Imaginons maintenant que chez un animal à urines acides, nous apportions le ferment dans la vessie non au moyen d'une sonde salie, mais en y introduisant de l'urine trouble déjà ammoniacale, ce qui nous permettra de mieux graduer

nos doses et de savoir mieux ce que nous faisons. Introduisons très peu de cette semence, l'urine qui la recevra restera acide, le développement de la torulacée sera très lent et pourra s'arrêter. Si la dose d'alcali introduite est suffisante pour saturer et rendre basique l'urine présente dans la vessie, le ferment se multipliera plus vite, et s'il agit assez rapidement pour contrebalancer la sécrétion d'urine acide qui continue à se faire, et maintenir l'alcalinité de la liqueur, l'ensemencement aura été réussi. La question de dose joue donc un grand rôle, et on voit pourquoi. Dans les expériences de Feltz et Ritter, les urines devenaient en effet ammoniacales quand on laissait à demeure, dans la vessie de l'animal, la sonde imprégnée de ferment, ou bien quand on y introduisait du ferment que l'on y retenait au moins douze heures au moyen d'une ligature du canal de l'urètre. Mais elles ne devenaient ammoniacales que d'une façon temporaire parce que, l'animal étant bien portant, la réaction acide reprenait le dessus.

Supposons enfin, en dernier lieu, que l'injection de ferment suive une miction et rencontre la vessie à peu près vide. Supposons d'un autre côté qu'elle soit faite au moment où l'animal se prépare à uriner, n'est-il pas évident que les résultats pourront être très différents. Dans le premier cas, l'urine acide arrivera par petites quantités à la fois dans un liquide alcalin et pourra y alimenter et y faire développer le ferment. Dans le second, le ferment arrivera au contraire dans une masse d'urine acide, et y sera gêné ou même arrêté dans sa multiplication.

Concluons donc que si une urine ne devient jamais ammoniacale que par suite de son invasion par les ferments de l'urée, il ne suffira pas toujours de porter dans une urine du ferment de l'urée pour la rendre ammoniacale. Concluons aussi, d'une façon plus générale, qu'il ne suffira pas toujours de déposer dans l'organisme un germe vivant, même de ceux qu'on sait pouvoir s'y développer, pour le voir y vivre, y prospérer et y amener ses désordres ordinaires. Il y a des causes de non réussite, déjà très nombreuses, pour l'implantation dans l'urine qui pourtant, à beaucoup d'égards, est dans la vessie comme dans un vase inerte. Combien ne doivent-elles pas être plus nombreuses lorsque le ferment introduit a à lutter contre les cellules vivantes de l'organisme.

Une autre conclusion pratique résulte de ces études. Si le ferment de l'urée est une cause de troubles dans l'organisme, il suffira pour les atteindre dans leur origine, sinon pour les faire cesser brusquement, de supprimer le ferment. L'expérience a montré que la torulacée redoutait beaucoup le contact des acides minéraux, surtout celui de l'acide borique, un peu moins celui de l'acide salicylique, moins encore celui de l'acide phénique. On essayera donc de traiter les malades par l'un des acides actifs, et de préférence par l'acide borique qui peut être impunément mis en contact avec les muqueuses les plus sensibles. M. Guyon s'est assuré en effet que l'on en obtenait les meilleurs résultats dans le traitement des catarrhes de la vessie. L'étude des propriétés du parasite nous donne donc un moyen thérapeutique. La connaissance de son intervention nous donne en outre un moyen prophylactique, en nous enseignant à ne jamais introduire par le canal de l'urètre un instrument qui n'aurait pas été stérilisé, soit par la chaleur, soit autrement. Voilà donc en somme une maladie

expérimentalement connue, qu'on peut prévenir et guérir. Combien il est à regretter qu'il n'y en ait pas davantage de pareilles.

BIBLIOGRAPHIE

PROUST. — Expériences sur l'urine. *Ann. de chimie*, t. XXXVI, 1880.

FOURCROY ET VAUQUELIN. — Mémoire sur l'urine. *Ann. de chimie*, t. XXXII.

VAUQUELIN. — Note sur la décomposition spontanée de l'urée. *Ann. de chim. et de phys.*, 2e sér., t. XIV.

L. PROUST. — Faits pour servir à la connaissance des urines et des calculs. *Ann. de chim. et de phys.*, p. 5, t. XXV.

JACQUEMART. — *Annales de chimie et de physique*, 3e série, t. VII.

MULLER. — *Journal f. Prakt. chemie*, t. LXXXI, 1860.

PASTEUR. — Mémoire sur les corpuscules organisés, etc. *Ann. chim. et phys.* 3e série, t. LXIV.

GOSSELIN ET ROBIN. — Recherches sur l'urine ammoniacale. *Comptes rendus*, 1874.

LAILLER. — Sur la fermentation ammoniacale de l'urine. *Comptes rendus*, 1874.

BÉCHAMP. — Sur les microzymas de l'urine. *Montp. médieal*, 1874.

— Discussion sur les urines ammoniacales. *Bull. Acad. Méd*, 20 janvier 1874.

GUBLER. — Fermentation ammoniacale de l'urine. *Comptes rendus*, 1874.

FELTZ ET RITTER. — Étude sur l'alcalinité des urines et sur l'ammoniémie. *Jour. de l'anat. et physiol.*, 1874.

P. CAZENEUVE et CH. LIVON. — Nouvelles recherches sur la fermentation ammoniacale de l'urine et la génération spontanée. *Revue mens. de médec. et de chirurgie*, 1877, p. 733.

MIQUEL. — *Annuaire de l'observatoire de Montsouris*, pour 1882.

CHAPITRE LXII

NITRIFICATION

Nous avons vu, dans les chapitres précédents, diverses matières azotées donner, comme terme définitif de l'action des ferments, des sels ammoniacaux à acides gras et du carbonate d'ammoniaque. Dans le chapitre précédent, nous avons de même étudié la transformation en carbonate d'ammoniaque de l'urée, qui est le terme extrême le plus important des mutations de la matière azotée dans l'organisme des animaux supérieurs, et qui se retrouve quelquefois, sans doute au même titre, dans les cellules des ferments. Nous avons donc conduit la matière albuminoïde jusqu'à son extrême destruction, jusqu'au moment où elle peut entrer en solution dans l'eau, où elle peut se mettre aussi, comme l'ont montré les belles expériences de M. Schlœsing, en suspension dans l'air, et recommencer le cycle de pérégrinations qui la ramèneront à l'état de matière azotée dans un autre organisme. Nous aurions donc le droit de l'abandonner désormais. Mais il se trouve que cette ammoniaque peut être transformée, par un mécanisme dans lequel interviennent aussi des infiniment petits, en un autre composé azoté, dont le rôle cosmique ne paraît pas moins important que le sien, l'acide nitrique, et que cet acide nitrique à son tour peut être réduit à ses éléments ou même de nouveau transformé en ammoniaque, par des êtres microscopiques. L'étude de ce double phénomène rentre tout naturellement dans notre cadre, et nous allons la commencer par l'exposé des découvertes récentes sur la nitrification.

Cause active de la nitrification. — L'importance du phénomène de la nitrification est telle qu'il a été étudié depuis longtemps, et par des savants de premier ordre. Grâce à leurs travaux, il était assez bien connu au point de vue pratique, et les conclusions auxquelles la science est arrivée sur ce sujet ne risquent pas d'être renversées par des progrès nouveaux. Mais la cause active du phénomène n'a été que tout récemment mise en lumière par les travaux de MM. Schlœsing et Muntz, auxquels sont venues se joindre des études de M. Warington, restées malheureusement un peu confuses parfois dans leurs résultats, mais en général d'accord avec les conclusions de MM. Schlœsing et Muntz. C'est à ces derniers que nous allons emprunter la plus grande partie de ce que nous aurons à exposer sur ce chapitre important.

Il faut pourtant dire tout de suite, parce que c'est une remarque applicable aux

travaux, que nous aurons à résumer dans ce chapitre et dans le suivant, que si l'on ne faisait pas bénéficier les résultats de MM. Schlœsing et Muntz de toutes les notions connues et sûres, sur l'histoire des infiniment petits, on pourrait trouver incomplète la démonstration qu'ils ont voulu donner de ce fait que la nitrification n'a lieu que par l'action de certains ferments. Quand on veut démontrer une vérité de cet ordre, la première chose à faire est d'isoler l'espèce active, de l'ensemencer seule dans un liquide approprié, et de montrer qu'elle y produit sa réaction caractéristique.

L'organisme auquel MM. Schlœsing et Muntz attribuent la propriété nitrifiante est tellement petit, qu'ils semblent n'avoir encore pu l'isoler. Il serait difficile de dire dès lors si l'espèce est unique, ou s'il y a plusieurs espèces possédant les mêmes propriétés. Quelques faits de nitrification qui m'ont passé sous les yeux, me feraient pencher vers cette dernière hypothèse. Par contre, je crois, contrairement à l'avis de M. Pasteur, que les microbes nitrifiants ne sont pas du tout des spores d'un vibrion doué à l'état adulte d'autres propriétés, et dont la spore seule serait un agent de combustion des matières azotées et de production d'acide nitrique.

L'aspect de tous les microbes nitrifiants qui m'ont passé sous les yeux, et parmi lesquels j'ai reconnu les formes indiquées par MM. Schlœsing et Muntz, n'est pas celui des spores. Leurs contours sont fins et nets, leur contenu homogène, leur ressemblance est accusée avec le *mycoderma aceti* et le ferment lactique jeune, ou mieux encore avec le microbe étudié par M. Boutroux. Mais leur taille est plus petite, leur degré de réfringence plus faible, plus voisin de celui de l'eau, de sorte qu'ils sont vraiment quelquefois difficiles à distinguer dans le liquide qui les contient.

Tout en ayant la forme de petites cellules, ils ne sont jamais franchement ronds ni même ovales. Ils rappellent toujours l'idée d'un bâtonnet assez grêle, qui aurait été tronçonné en fragments plus ou moins courts, dont on aurait abattu les angles.

Les cellules du ferment sont non seulement de longueurs différentes, ce qui est fréquent chez ces espèces, mais de largeurs très différentes aussi, variables du simple au double dans la même préparation et à tous les âges de la fermentation. MM. Schlœsing] et Muntz ont noté ces variations de largeur, et les ont considérées comme dépendant de la nature du milieu, si bien que les êtres sont plus gros dans les milieux riches en matières organiques. Mais les variations dans une même préparation ne s'expliquent pas par là. Peut-être y a-t-il, comme dans d'autres cas, un effet de vieillesse, la cellule se rapetissant quand sa vie active est terminée. Les différences de tailles que j'ai observées sont trop grandes pour être l'effet d'une variation dans la nature et dans la proportion des éléments nutritifs. Du moins aucune espèce bien connue n'en présente d'aussi grandes.

Quoi qu'il en soit, nous avons le droit de laisser pour le moment la question indécise, et de parler du ferment nitrificateur comme s'il n'y en avait qu'un.

Conditions de culture du ferment nitrificateur. — Pour le cultiver, on se sert de matras à fond très plat dans lesquels on dispose, en

couche très peu épaisse, un liquide nutritif en présence de l'oxygène. Ainsi qu'on pouvait s'y attendre, l'être est en effet aérobie par excellence, et ne paraît pas pouvoir résister à la privation d'oxygène prolongée trop longtemps.

Pourtant, dans des expériences antérieures, M. Schlœsing avait constaté que la nitrification n'était pas beaucoup plus lente dans de l'air renfermant 1,5 p. 100 d'oxygène que dans l'air normal. Le ferment peut donc se contenter de très peu d'oxygène. Mais ces expériences se rapportent à des ferments agissant dans de la terre poreuse. Il est probable que dans l'eau, un air aussi appauvri d'oxygène tuerait le microbe, à cause de la faiblesse du coefficient de solubilité du gaz dans l'eau.

Le milieu nutritif peut être de l'eau à laquelle on a ajouté un sel ammoniacal, destiné à subir la transformation, et des éléments carbonés et minéraux, propres à fournir au microbe les matériaux d'organisation de ses tissus. Il ne faut pas qu'il y ait trop de matière organique. Dans ce cas, celle-ci est envahie par ses ferments, qui disputent la place au ferment nitrique et paralysent son action. La formation du salpêtre s'arrête alors pour recommencer lorsque la matière organique a été brûlée par la fermentation qu'elle a subie. On retrouve dans ce fait l'explication de la notion si connue que les nitrières artificielles les plus riches renferment, mais renferment très peu de matière organique.

Dans le sol végétal, où la nitrification est continue, et où l'on rencontre partout le ferment nitrique, son action est évidemment liée à celle des ferments des matières azotées, opérant dans ces substances, comme nous l'avons vu, des combustions dont le dernier terme est le carbonate d'ammoniaque. Ce carbonate d'ammoniaque, et peut être aussi les matières extractives qui forment les résidus vitaux des ferments des substances albuminoïdes, peuvent être repris par le ferment nitrique, et subir par lui un degré d'oxydation plus avancé, qui en fait disparaître le carbone sous forme d'acide carbonique, et donne à l'azote la forme définitive d'acide nitrique.

Aussi les eaux pauvres en matières azotées sont-elles très propres au développement de ce ferment. L'eau d'égout par exemple, filtrée, clarifiée au besoin par un peu d'alun, et stérilisée par un chauffage à 110 degrés, forme un excellent terrain de culture.

Quant à la semence du végétal, on peut l'emprunter à des sources bien diverses. Cependant il n'y en a pas dans l'air; du moins, MM. Schlœsing et Muntz n'ont jamais obtenu l'ensemencement de ballons stériles, en y laissant rentrer de l'air ordinaire, ni en y introduisant la poussière retirée de plusieurs mètres cubes d'air, ou celle déposée à la surface d'objets placés au-dessus du sol, ou encore celle qu'ils ont retirée des eaux pluviales. Toutefois, la preuve alléguée nous semble un peu douteuse. Le terrain où l'on ensemence ces germes ne semble pas, malgré la nitrification qui s'y accomplit, un terrain très favorable, et dès lors, comme nous l'avons vu à propos de la levure, il suffit que la vitalité de la semence soit un peu atteinte, et il n'est pas nécessaire qu'elle soit anéantie, pour que son déveveloppement soit impossible. Il serait surprenant de voir manquer dans l'air un microbe, si abondamment répandu dans le sol qu'on l'y trouve partout, lorsque tant de causes diverses entraînent dans l'air les poussières empruntées au sol.

Cependant la dessiccation qu'il subit dans l'air suffit peut-être à le faire périr au bout de peu de temps. Du terreau, siège d'une nitrification énergique, peut devenir en effet complètement inerte après s'être desséché par exposition à l'air à la température ordinaire, et cette inertie peut persister même lorsqu'on y provoque à nouveau les conditions les plus avantageuses de la nitrification.

Quoi qu'il en soit, on s'adressera de préférence à la terre arable pour l'ensemencement de l'eau d'égout. Il est rare qu'une particule quelconque de cette terre ne donne pas une culture féconde. On pourrait encore se servir des eaux ordinaires, mais le ferment n'y est pas toujours en quantité notable. Il paraît s'attacher de préférence à la surface des corps solides, et on le trouve abondamment dans la vase de fond.

Action de la température. — Comme pour tous les ferments, les conditions de température jouent un grand rôle dans la nitrification. Au-dessous de 5° elle est excessivement faible, sinon tout à fait nulle. Elle devient appréciable vers 12 degrés. En continuant à élever la température, on constate que les quantités de nitrate formé croissent rapidement; à 37° le maximum est atteint, et l'activité du phénomène dix fois plus grande qu'à 14°; au delà, il y a une diminution rapide; à 45° il se forme moins de nitre qu'à 15°; à 50°, on en obtient de très petites quantités; au delà de 55°, il n'y en a plus aucune trace. L'activité du ferment est tout à fait éteinte vers 90°, et une température de 100° maintenue pendant dix minutes le tue infailliblement. Il est probable même qu'il n'en faut pas autant. Le ferment nitrique ressemble trop aux *micrococcus*, chez lesquels, comme nous l'avons vu, on ne connaît pas encore des spores, et dont aucun ne résiste seulement une minute à l'action de l'eau bouillante.

Action des antiseptiques. — Le ferment nitrique est très sensible à l'action des antiseptiques. Dans leurs premières expériences à ce sujet, MM. Schlœsing et Muntz avaient constaté que la nitrification dans une colonne de terre végétale s'arrêtait lorsqu'on faisait emporter des vapeurs de chloroforme au courant d'air qui la traversait, puis reprenait lorsque l'action du chloroforme avait cessé. M. Warington a constaté que le sulfure de carbone, et l'acide phénique à un moindre degré, jouissaient de la même propriété. Les expériences ont porté sur du terreau sec, parcouru par un courant d'air qui se chargeait de vapeurs diverses en traversant des éponges imbibées de divers liquides. Voici, en millionnièmes du poids du terreau, les quantités d'azote sous forme d'azotate et d'azotite dans le terreau initial et dans le terreau mis en expérience. Les expériences de la première série ont duré trente-neuf jours, celles de la seconde quarante-six jours.

	Première expérience.	Deuxième expérience.
Terreau primitif	6,12	8,91
— traversé par l'air ordinaire	40,87	50,86
— avec acide phénique	17,20	40,77
— sulfure de carbone	6,70	9,75
— choroforme	9,48	7,86

La différence dans les effets de l'acide phénique tient sans doute à ce que cet acide est peu volatil, et que sa vapeur se redissout dans les premières portions d'eau qu'elle rencontre. Or, dans la seconde expérience, le terreau était plus humide que dans la première, les premières portions traversées ont retenu l'acide phénique, et la nitrification s'est produite librement dans les dernières. On aurait évité cette cause d'erreur en humectant le terreau avec de l'eau phéniquée.

Avec ce mode opératoire, du reste, l'efficacité de l'acide phénique est moins grande que celle du chloroforme et du sulfure de carbone, pour lesquels la quantité de nitrate est si peu différente à la fin de l'action de ce qu'elle était au commencement, que l'on peut presque admettre qu'ils arrêtent tout à fait la nitrification. On voit pourtant qu'il n'en est pas absolument ainsi, ce qui est conforme à ce que nous savons sur l'action de ces substances qui paralysent à des degrés divers les divers microbes, mais n'en arrêtent absolument aucun.

MM. Schlœsing et Muntz ont constaté que dans les terres chloroformées, aussi bien que dans les terres chauffées à 100 degrés, la combustion de la matière organique a continué à se manifester par un dégagement d'acide carbonique, et en ont conclu que la combustion se continuait en vertu de forces purement chimiques, admettant que la chaleur, et surtout le chloroforme, y avaient supprimé toute action d'êtres vivants. La conclusion n'est pas certaine. Pour la chaleur, nous savons qu'une température de 100 degrés respecte un grand nombre d'espèces. Nous savons aussi que le chloroforme ne tue pas toutes celles qu'il rencontre ; il peut retarder beaucoup et même arrêter la nitrification, et peut malgré cela laisser vivantes des espèces aérobies ou anaérobies dégageant l'acide carbonique. La combustion directe n'a lieu que dans la mesure très restreinte dont nous avons donné déjà l'idée dans les premiers chapitres de ce livre.

Nitrification naturelle et artificielle. — Avec ce que nous venons d'apprendre sur les propriétés du ferment nitrique, nous pouvons essayer de nous rendre compte des causes et des raisons d'être de toutes les conditions diverses que la pratique a appris à connaître comme devant présider à la constitution au fonctionnement des nitrières naturelles ou artificielles.

Dans ce que nous avons dit au sujet de l'oxygène, nous trouvons l'explication d'une condition essentielle des nitrières, où l'air, circulant par les interstices et par les spores de la terre, doit toujours être en excès. Si la terre vient à être noyée, la nitrification cesse. Si les mucédinées viennent à se développer à la surface et dans l'intérieur, l'accès de l'air est rendu plus difficile ou même impossible, et le même fait se produit. La porosité du sol, en multipliant les surfaces, favorise l'oxydation, si l'air pénètre en quantité suffisante ; mais elle n'est pas essentielle au phénomène, comme on le croyait autrefois. MM. Schlœsing et Muntz ont en effet pu nitrifier de l'eau d'égout, en la faisant couler sur la surface de billes en calcaire compacte, ou sur des cailloux siliceux roulés. Dans les cultures en matras à fond plat, où nous avons vu qu'on pouvait multiplier le ferment et le faire vivre dans un liquide de faible épaisseur, il n'y a plus de corps poreux. Mais là, la nitrification est lente parce que l'air, obligé de pénétrer par

la surface libre, ne se diffuse que lentement dans la masse quand celle-ci est en repos. Aussi les autres conditions restant les mêmes, les proportions de nitre formé sont en relation directe avec les étendues superficielles. Dans les liquides profonds, on peut activer par un barbotage d'air le fonctionnement du microbe.

Relativement à l'humidité, on sait qu'il en faut une certaine dose pour que la nitrification se produise; sans quoi, le ferment interrompt son action tant que la sécheresse dure. MM. Schlœsing et Muntz ont constaté que la nitrification est d'autant plus rapide dans les milieux solides que le degré d'humidité est plus grand, à la condition toutefois que la terre ne soit pas noyée, comme nous le disions tout à l'heure.

Nous avons vu aussi qu'une certaine quantité de matière organique est nécessaire. Les substances carbonées les plus diverses, le sucre, la glycérine, l'alcool, l'acide tartrique, l'albumine, peuvent fournir le carbone indispensable à la réaction. Il est nuisible qu'il y ait trop de substance organique. Il est meilleur qu'il y en ait très peu. D'après M. Warington, la proportion du carbone organique, lorsqu'il vient d'un tartrate, à l'azote du sel ammoniacal à nitrifier, lorsqu'on prend le chlorhydrate d'ammoniaque, doit être de 3 à 10 en poids, et pourrait même probablement être plus faible sans inconvénient.

L'*humus*, que l'on considérait autrefois comme un des facteurs nécessaires de la nitrification, n'est donc pas indispensable. Toutefois, il est meilleur que la matière organique qu'on fournit soit à l'état où elle est dans l'*humus*, c'est-à dire sous une forme déjà élaborée par les ferments des substances azotées, et par là même moins capable d'en nourrir de nouveaux. Le champ est alors plus libre pour le ferment nitrificateur.

Outre la matière azotée, il faut ajouter au milieu un élément alcalin, ou capable de le devenir par la combustion qu'il subit, par exemple du tartrate de potasse. C'est ce qui résulte des observations concordantes de M. Warington et de MM. Schlœsing et Muntz. Dans la nature, c'est généralement le carbonate ou plutôt le bicarbonate de chaux qui joue le rôle d'alcali. Les carbonates alcalins très étendus produisent le même résultat. Mais lorsque leur degré de concentration dépasse 2 ou 5 millièmes, ils deviennent défavorables, ou même arrêtent complétement l'action du ferment nitrique. Il en est de même du carbonate d'ammoniaque ou de la chaux, c'est ainsi que s'explique l'absence de la formation du nitre dans les expériences bien connues de M. Boussingault sur le chaulage.

L'addition, aux milieux nourriciers, de petites quantités de sels neutres, alcalins ou alcalino-terreux, paraît sans influence. Les nitrates en particulier semblent n'avoir aucune action spéciale. Si les milieux qui en renferment paraissent quelquefois plus actifs que d'autres, c'est que leur présence témoigne qu'il y a du ferment nitrique en activité.

Production des nitrites. — L'oxydation de l'azote ne va pas toujours jusqu'à la production des nitrates. On observe fréquemment la production des nitrites, dont M. le colonel Chabrier a constaté la présence dans les eaux, et quelquefois dans les sols. Dans ces derniers, pourtant, leur formation est rare.

Elle est au contraire fréquente dans les milieux liquides de culture, et s'observe souvent lorsque la température est inférieure à 20 degrés, ou l'aération difficile. L'épaisseur joue aussi un rôle. Toutes choses égales d'ailleurs, les liquides placés sous une épaisseur de 1 à 2 millimètres ne donnent que des nitrates, lorsque, sous une épaisseur plus grande, ils donnent des nitrites en abondance. On peut résumer tous ces faits en disant qu'en général il y a formation de nitrites quand les conditions de température et d'aération sont peu avantageuses. Mais il y en outre une curieuse influence de la nature du ferment étudiée par M. Warington. Lorsqu'on prend de la semence du ferment nitrique dans un liquide où il s'est formé des nitrates, mais qu'on a abandonné à lui-même pendant plusieurs mois, et qu'on porte cette semence dans une nouvelle dissolution de chlorhydrate d'ammoniaque additionnée d'éléments nutritifs, cette solution ne donne que des nitrites. Le ferment semble avoir perdu de ses propriétés oxydantes et, ensemencé dans une nouvelle liqueur, ne donne encore que l'acide nitreux.

M. Warington rapproche ces faits des phénomènes de diminution d'énergie daus la virulence que M. Pasteur a observés. Mais peut-être y a-t-il une autre interprétation, et peut-être y a-t-il un ferment nitreux et un ferment nitrique, le premier persistant seul après un certain temps.

Il ne semble pas en effet que les organismes étudiés par M. Warington aient été purs. Ce savant dit, en effet, que lorsqu'on abandonne à eux-mêmes les liquides nitrifiés, on voit apparaître à la surface un voile de bactéries, qui produit aussi la fermentation nitrique. Rien ne s'oppose donc à ce qu'on croie à un mélange d'espèces dans son expérience.

Signalons enfin, pour terminer, l'influence de la concentration de la solution sur la marche de la fermentation. A 15 degrés, une solution à 8 p. 100 de chlorydrate d'ammoniaque, ensemencée avec un ferment neuf, donne une fermentation nitrique. Elle donne une fermentation nitreuse si la température est plus élevée ou la concentration plus grande.

La lumière ne semble jouer aucun rôle dans ce phénomène de la production de nitrites au lieu de nitrates. Elle est du reste sans grande influence sur la nitrification elle-même. Le phénomène se produit avec une égale intensité dans l'obscurité et dans les lieux faiblement éclairés. A une lumière plus vive, il y a un ralentissement quelquefois notable, observé pour la première fois par M. Warington. Mais l'action de la lumière, dans des vases clos, s'accompagne d'une augmentation de température, dont M. Warington a bien cherché à éliminer l'influence sans arriver sur ce point à des résultats décisifs. De plus, l'action de la lumière favorise la production de cellules à chlorophylle, qui sont des agents actifs de consommation des nitrates. Enfin, et lors même que des expériences plus probantes amèneraient à accepter comme vraie cette influence de la lumière, il faut remarquer qu'elle ne saurait être considérable dans le sol, où les particules superficielles seules sont exposées à son action directe.

BIBLIOGRAPHIE

Schlœsing et Muntz. — *Comptes rendus*, t. 84, p. 301.

Warington. — Sur la nitrification. Présenté à la Société chimique de Londres, 6 décembre 1877. *Chemical news*, 14 décembre 1877.

Warington. — La nitrification. *Journal of the chemical Society*. Janvier 1878, p. 44, et juillet 1879, p. 429.

Schlœsing et Muntz. — *Comptes rendus*, t. 89, 1879, p 91 et 1074.

E.-W. Davy. — Nitrification. *Chem. news*, 40, p. 271.

R. Warington. — *Chem. news*, t. 35, 429.

— Altérations in the properties of the nitric ferment by cultivation. *Chem. News*, t. 44, p. 207.

CHAPITRE LXIII

ACTIONS RÉDUCTRICES DES FERMENTS

La nitrification, dont nous venons d'étudier la cause, est une action oxydante qui ne peut se produire que dans un sol aéré. La dose d'oxygène nécessaire peut être assez faible sans que le phénomène soit notablement entravé, c'est ce qui résulte des expériences de M. Schlœsing, mais il faut qu'il y ait un peu de ce gaz. Lorsqu'il manque, les microbes anaérobies du sol prennent à leur tour la prédominance, et amènent des actions réductrices dont il nous faut étudier le mode d'intervention, l'importance et les résultats.

Mais nous devons d'abord faire une remarque préliminaire, c'est qu'il ne faudrait pas mettre en opposition ces deux actions que nous venons d'appeler réductrice et oxydante, et faire de lapremière l'apanage exclusif des anaérobies, de la seconde celui des aérobies. Dans les oxydations les plus franches accomplies par les microbes, par exemple, dans la transformation de l'alcool en acide acétique par le *mycoderma aceti*, il y a croissance de la plante, formation de tissus vivants, c'est-à-dire toute une série de phénomènes essentiellement réducteurs. D'autre part, dans les phénomènes vitaux des anaérobies, par exemple dans la levure de bière vivant aux dépens du sucre, il y a à la fois, en laissant de côté cette fois la cellule, et en n'examinant que les produits de la fermentation, il y a à la fois oxydation dans la formation d'acide carbonique, et réduction dans la formation d'alcool. Les deux phénomènes sont mêmes corrélatifs l'un de l'autre, et Lavoisier s'en était aperçu, lorsqu'il disait que la fermentation alcoolique était la combustion d'une partie du sucre aux dépens de l'autre. Cette observation a été souvent oubliée depuis, et son oubli a entraîné à des considérations hors de saison sur les causes de l'action oxydante que pouvaient exercer des microbes vivant hors du contact de l'air. Nous aurons souvent à la rappeler à propos de la putréfaction, et il importe aussi de ne pas l'oublier dans notre étude actuelle des actions réductrices s'accomplissant dans le sol ou dans les milieux privés d'air.

Action de l'hydrogène. — C'est surtout à l'hydrogène qui se dégage quelquefois, mais pas toujours, dans les fermentations à l'abri de l'air, qu'on a attribué des propriétés réductrices, celle de transformer l'acide lactique en

acide propionique, l'acide malique en acide succinique, même les acides gras en leurs alcools correspondants; enfin de réduire même les sulfates en sulfures. Là où il ne se dégageait pas d'hydrogène, on n'était pas éloigné d'admettre qu'il était absorbé au fur et à mesure de sa formation, et employé à des actions analogues à celles dont nous venons d'indiquer quelques-unes.

Nos études sur les ferments de la caséine nous permettent de juger cette hypothèse. Elle a ceci de vrai, que dans quelques cas la réduction semble bien due à l'action de l'hydrogène. Lorsqu'on voit, par exemple, la proportion d'hydrogène sulfuré décroître avec le lait à mesure que la fermentation s'avance, et être remplacée par un volume d'hydrogène sensiblement égal, il est difficile de ne pas croire que sa formation à l'origine est due à l'action de l'hydrogène sur les matériaux sulfurés de la liqueur, et qu'elle cesse aussitôt que ces matériaux, ou plutôt que leurs éléments accessibles ont complètement perdu leur soufre.

Mais cela ne veut pas dire que toutes les fois que de l'hydrogène se dégagera, il devra exercer autour de lui des actions réductrices. Nous avons signalé des ferments de la caséine, dégageant de l'hydrogène et n'amenant aucune odeur putride dans le liquide où ils vivent. Il y en a qui produisent une odeur franche d'hydrogène sulfuré, tout à fait distincte de l'odeur putride. Celle-ci semble due à autre chose que de l'hydrogène sulfuré, à du bisulfure d'hydrogène ou à des hydrogènes phosphorés divers, qui tantôt manquent, tantôt sont présents dans les dégagements gazeux contenant de l'hydrogène. En résumé, l'hydrogène ne semble pas être seul à jouer un rôle, et la formation des composés hydrogènés ne saurait être considérée comme le résultat d'une action latérale à la fermentation à l'abri de l'air. Il faut faire intervenir la nature de l'être qui l'a produit, et par conséquent le mécanisme physiologique du phénomène au lieu et place d'un mécanisme chimique. Sous le bénéfice de ces observations, nous pouvons entrer dans l'étude détaillée de quelques actions réductrices mieux étudiées que les autres, ou plus importantes à raison de leur rôle agricole ou industriel.

Formation d'acide sulfhydrique aux dépens du soufre. — M. Miquel a rencontré dans les eaux d'égout, les eaux potables, et même quelquefois dans les eaux pluviales, un organisme bactériforme mobile, formé de cellules dont l'épaisseur n'atteint pas 1^{μ}. Ces cellules, cultivées dans des milieux nutritifs, s'allongent en bacillus. Dans des milieux pauvres, elles sont à peine plus longues que larges et peuvent même sembler circulaires.

Mises en contact à 30 ou 35° avec de l'albumine d'œuf, elles donnent, aux dépens des matériaux sulfurés qu'elles y trouvent, de l'acide sulfhydrique dont la quantité, si les circonstances sont favorables, peut atteindre en soixante-douze heures 70 centimètres cubes de gaz par litre d'infusion. Elles semblent donc être des ferments des matières albuminoïdes, et se rapprochent par tous leurs caractères des ferments de la caséine que nous connaissons.

Le côté original des observations de M. Miquel est le suivant : si l'on met ce microbe en contact avec un liquide un peu nutritif, exempt de soufre et de toute substance sulfurée, il dégage de l'acide carbonique et de l'hydrogène. Vient-on à introduire dans ce milieu des fragments de soufre, l'acide sulfhydrique apparaît et se répand dans la liqueur. L'hydrogénation du soufre n'est donc ici qu'un

phénomène secondaire, latéral au phénomène de nutrition. Il est très facile de mettre en jeu cette hydrogénation en faisant vivre le microbe au contact de quelques fragments de caoutchouc vulcanisé, qui apporte du soufre finement divisé et du soufre faiblement combiné à la matière organique. On obtient, à la condition de renouveler la substance alimentaire, et de ne pas trop laisser s'accumuler dans la liqueur l'acide sulfhydrique formé, une production continue de ce gaz.

Le liquide reste limpide, ou devient tout au plus très légèrement louche. Le caoutchouc se charge d'éléments du ferment et peut, introduit dans un autre milieu, servir de semence pour une fermentation identique.

Si le liquide où s'effectue l'hydrogénation du soufre est alcalin, ou le devient par suite de fermentations simultanées, l'hydrogène sulfuré se combine à l'alcali et on obtient des sulfures. On peut ainsi préparer des sulfures de sodium, de calcium et d'ammonium. Pour ce dernier, il suffira de placer au-dessus d'une couche de soufre, une solution d'urée additionnée de substances nutritives, et ensemencée par un mélange de ferment ammoniacal et du ferment décrit plus haut. En moins de soixante-douze heures, on obtient une solution incolore de sulfhydrate d'ammoniaque dont la proportion peut être en moyenne de 0^{gr},7 par litre de liqueur. Cette proportion est un peu supérieure à la proportion maxima que peut atteindre l'acide sulfhydrique libre, parce que le microbe tolère mieux cet acide en présence des bases,

Tous ces phénomènes sont intéressants. A-t-on le droit de les rassembler sous le nom de fermentation sulfhydrique, comme le fait M. Miquel? Nous ne le pensons pas. Si l'on ne veut pas introduire dans les termes une confusion inextricable, il faut réserver le mot de fermentation aux phénomènes dans lesquels il y a nutrition d'un microbe aux dépens d'un aliment déterminé, dont partie entre comme élément dans les tissus de l'être, partie est éliminée avec la qualité et dans la mesure qu'exigent ses besoins vitaux. Telle est la fermentation du sucre au contact de la levure de bière, telle aussi, avec des variations dépendant de la nature du microbe, la fermentation acétique de l'alcool; telles encore toutes les fermentations que nous connaissons bien.

On désigne, il est vrai, les deux premières sous le nom de fermentation alcoolique et de fermentation acétique, du nom de leurs produits, et il semble qu'on ait le droit par suite d'appeler celle que nous venons d'étudier du nom de fermentation sulfhydrique. Mais c'est le mot fermentation qui est le terme générique, c'est lui qui donne à l'action son caractère fondamental, et c'est lui qu'il faut se demander si l'on a le droit d'appliquer.

Or, dans l'espèce, il n'en est pas ainsi. M. Miquel avoue lui-même que l'hydrogénation du soufre est une action tout à fait distincte du phénomène de nutrition, pouvant exister ou manquer suivant la présence ou l'absence du soufre dans la liqueur. Ceci montre non seulement qu'il ne faut pas appeler fermentation le phénomène où elle se produit, mais qu'il est bien plus incorrect d'appeler ce phénomène du nom de fermentation sulfhydrique qu'il ne le serait d'appeler fermentation carbonique la fermentation alcoolique ordinaire, car ici au moins l'acide carbonique provient d'un phénomène de nutrition, tandis que l'acide sulfhydrique n'a pas ce rôle dans les phénomènes que nous venons d'étudier.

Ces observations s'appliquent non seulement au travail que nous venons de résumer, mais encore à quelques-uns de ceux que nous allons rencontrer dans ce chapitre et auxquels le mot de fermentation a été aussi inexactement appliqué.

Réduction des sulfates. — M. Plauchud a le premier émis et soutenu de preuves l'idée que l'hydrogène sulfuré et les sulfures de quelques eaux minérales étaient dues à des actions de fermentation se produisant dans ces eaux. En ensemençant. dans une eau renfermant du sulfate de chaux et une petite quantité de matières organiques, des sulfuraires empruntés à une source sulfureuse, il les a vues se développer et amener la production d'hydrogène sulfuré dans le liquide qu'elles habitaient. Un pareil liquide, non ensemencé ou chauffé après ensemencement reste inaltéré. Lorsqu'il est en pleine production d'acide sulfhydrique, il s'arrête si on le chauffe, et se remet en train quand on y réintroduit quelques filaments du végétal. M. Plauchud a constaté depuis que le chloroforme entravait momentanément l'action et anesthésiait la plante, mais l'action recommence quand on élimine le chloroforme. L'acide phénique produit le même résultat. Les sulfuraires sont donc la cause et non l'effet de la sulfuration des eaux où on les rencontre. Il est certain qu'une cause vivante est la seule qui puisse expliquer la constance de composition de ces eaux. Quant au fait de la formation d'eaux sulfureuses par réduction des sulfates, il a été depuis longtemps mis hors de doute par les expériences de M. Chevreul, et par l'étude des conditions qui président à la sulfuration des eaux d'Enghien, où la réduction du sulfate de chaux des terrains environnants est la seule source de l'hydrogène sulfuré et des sulfures qu'on y rencontre.

MM. Etard et Olivier ont précisé les conditions dans lesquelles le phénomène se produit. On sait qu'on rencontre en grande abondance dans les eaux sulfureuses des algues appartenant au groupe des Oscillatoriées, et qu'on a appelé des Beggiatoa. Ces algues vivent aussi dans les eaux douces, les lacs et les mares. Dans les eaux sulfureuses, elles ont au microscope un aspect particulier. On voit, dans la masse protoplasmique des cellules qui les constituent, des granulations sombres, solubles dans l'éther, le chloroforme et notamment le sulfure de carbone. Ces granulations disparaissent lorsqu'on cultive l'algue dans des liquides privés de sulfates. Elles reparaissent dans les liquides où l'on a fait dissoudre du sulfate de chaux. Ces granulations sont du soufre et constituent un témoin des phénomènes de réduction s'accomplissant dans le protoplasma de l'être vivant.

Ces Beggiatoa sont pourtant aérobies. Semées dans un liquide, elles se développent d'abord indifféremment dans toutes ses parties, mais elles en abandonnent les régions profondes et se localisent à la surface quand l'oxygène commence à leur manquer.

D'autres algues jouissent des mêmes propriétés. Des algues filamenteuses bleues du genre Oscillaria se garnissent de soufre dans des eaux faiblement séléniteuses et n'en prennent pas lorsqu'elles vivent dans l'eau sulfureuse des Eaux-Bonnes, qui renferme des sulfures de sodium et de calcium. Dans ce cas, le

soufre, s'il se déposait, ne pourrait provenir que d'une oxydation dont le protoplasma ne peut être le siège.

MM. Olivier et Etard ont en outre étudié deux autres algues chlorosporées, appartenant au groupe des *Ulothrix*, et provenant des bassins chauds de Néris (Allier) dont les eaux ne renferment du soufre qu'à l'état de sulfate de soude; ces algues, à l'origine, renfermaient des grains de soufre pur comme les *Beggiatoa*. Cultivées à l'air, dans de l'eau thermale étendue d'eau distillée, elles les ont perdus. Ensemencées dans un ballon rempli aux trois quarts d'eau saturée de sulfate de chaux, elles ont, dans un cas, pu y prospérer, en s'y munissant de soufre en granulations, et en produisant de l'hydrogène sulfuré.

Il ne paraît donc pas douteux que le travail physiologique de certaines plantes déterminées ne puisse réduire les sulfates, en particulier le sulfate de chaux, le plus abondant dans le sol, pour en faire suivant les cas soit du soufre, soit de l'hydrogène sulfuré. De nouvelles recherches seraient nécessaires pour élucider le mécanisme de l'action qui se produit. Y a-t-il toujours formation d'hydrogène sulfuré, qui, dans quelques cas apparaîtrait en nature, qui, dans d'autres, brûlé lentement au contact de l'air, donnerait un dépôt de soufre? Y a-t-il réduction à l'état de soufre d'une partie de l'acide sulfurique. Le fait de l'absence de granulations dans les Oscillaria cultivées dans les Eaux-Bonnes est mieux d'accord avec la seconde hypothèse qu'avec la première, mais ne suffit pas pour décider entre les deux.

Quoi qu'il en soit, si l'on songe que ces Beggiatoa se rencontrent si fréquemment dans les eaux sulfureuses, qu'on leur a donné le nom vague de *sulfuraires*, quand on en a reconnu la nature animée, qu'avant ce moment on les a longtemps prises pour un précipité inerte, résultat d'une sorte de condensation de la matière organique, supposée en dissolution dans les eaux, et qu'on les a étudiées et dosées même sous le nom de barégine et de glairine, on comprend qu'on puisse leur attribuer la sulfuration de l'eau qui les nourrit. Elles paraissent pouvoir se contenter, comme du reste beaucoup d'algues, même incolores, d'une très petite quantité de matière organique. Quand elles ont un peu de chaleur, et c'est le cas général pour les eaux sulfureuses, elles se développent abondamment, peuvent remplir au sein de la terre, dans les conduits parcourus par l'eau, des cavités qui n'ont pas besoin d'être très grandes, et si elles rencontrent un sulfate, elles peuvent alimenter d'une façon continue et régulière l'eau qui les baigne d'hydrogène sulfuré. M. Plauchud leur attribue même, et non sans apparence de raison, la production des dépôts de divers sulfures dans les entrailles du sol. Il a observé dans son voisinage deux sources, l'une sulfureuse, l'autre renfermant des sels de fer. Ces deux sources se réunissent et forment un dépôt de sulfure que de fréquents débordements éparpillent, mais qui, s'il était abandonné à lui-même, ne manquerait pas de former un sédiment de sulfure de fer, dont les diverses couches présenteraient sans doute des couleurs différentes, comme dans la nature. La formation de filons de sulfures divers peut s'expliquer sans difficulté par des actions analogues.

Réduction des nitrates. — Un grand nombre de faits d'ordre purement chimique nous apprennent que la réduction des nitrates est plus facile

que celle des sulfates. Nous avons donc le droit de penser que s'il y a des êtres capables de réduire le sulfate de soude et le sulfate de chaux, il y en a aussi qui sont capables de détruire l'acide azotique et de l'amener à des degrés inférieurs d'oxydation.

Le fait de la réduction des nitrates a été, en effet, souvent observé dans les fabriques de sucre de betteraves, où il n'est pas rare de voir, pendant le travail, des masses de pulpe se mettre à fermenter d'une façon en apparence spontanée, et donner des vapeurs nitreuses en abondance. Le jus de la plante, riche en nitrates, est naturellement ou devient acide, de l'acide nitrique est mis en liberté, et réduit à l'état d'acide hypoazotique qui se dégage. Il est même probable, vu la rapidité du dégagement, que la réduction va plus loin, et qu'il se forme du bioxyde d'azote qui s'oxyde en arrivant à l'air.

M. Meusel a en effet reconnu la présence de nitrites dans des eaux ne renfermant que des nitrates, et en a rapporté la formation à sa véritable cause, la présence dans ces eaux d'êtres vivants, qu'il appelle peut-être à tort des bactéries. Il a reconnu qu'il fallait, pour obtenir la production des nitrites, fournir à ces bactéries, outre des nitrates, un aliment hydrocarboné, et que leur action s'interrompait et cessait sous l'influence du chloroforme, de l'acide phénique ou encore de la chaleur.

Les aliments hydrocarbonés à fournir ne peuvent pas être quelconques. Les meilleurs sont les substances hydrocarbonées neutres, les sucres, les divers alcools. Quand on se sert des acides organiques, on n'observe aucune production de nitrites. Cette différence, signalée par M. Meusel, pourrait s'expliquer en admettant que les nitrites se produisent dans le second cas comme dans le premier, ce qui est d'accord avec ce que l'on sait sur le peu de différence des qualités nutritives des sucres et de l'acide tartrique, par exemple, pour les bactéries ; seulement, lorsqu'il se forme dans un milieu acide, l'acide nitreux ne persiste pas comme il le fait dans un milieu où il peut former un sel, et se décompose en acide nitrique et en bioxyde d'azote.

MM. Gayon et Dupetit ont observé des phénomènes de même ordre, c'est-à-dire des transformations de nitrates en nitrites, et aussi, ce qui est plus important, des réductions aboutissant à la production d'azote. Parlons d'abord de ces dernières. En additionnant de nitrate de potasse de l'eau d'égout, ou mieux encore du bouillon de poule, on obtient des liquides qui se peuplent en abondance d'organismes anaérobies, et d'où les nitrates disparaissent peu à peu. Ici encore il faut un aliment hydrocarboné. Le bouillon de poule peut suffire, mais quand on l'additionne de sucre, d'alcool ordinaire, ou mieux d'alcool propylique, il donne une réduction plus active, une mousse plus épaisse, et un dégagement gazeux plus abondant; on peut ainsi transformer 1 gramme de nitrate de potasse par litre et par jour.

L'action de la chaleur, celle du chloroforme, celle du sulfate de cuivre arrêtent le phénomène. Mais les espèces rencontrées par M. Gayon ont résisté à l'action de l'acide phénique et même de l'acide salicylique, employés à des doses plus élevées que les doses antiseptiques ordinaires, et même font disparaître ces acides, dont elles usent comme aliment hydrocarboné.

Le gaz qui se dégage est de l'azote pur, représentant une forte proportion de

l'azote du nitrate employé. Le reste forme de l'ammoniaque et des produits divers.

Les conditions générales du phénomène sont analogues pour la production des nitrites. Il faut encore de la matière organique en même temps que du nitrate, et le bouillon de poule convient encore très bien, mais les microbes sont différents.

Le plus actif comme producteur de nitrites, que MM. Gayon et Dupetit appellent microbe *a*, est formé de bâtonnets mobiles. Il se développe très bien dans le bouillon de poule additionné de 10 grammes de nitrate de potasse par litre, et le trouble dans toute son épaisseur, sans donner de gaz. Le nitrate devient du nitrite. Une portion de l'oxygène disparu donne de l'acide carbonique, une autre portion sert à des oxydations diverses dont le détail est inconnu.

D'autres microbes jouissent des mêmes propriétés. MM. Gayon et Dupetit en décrivent trois autres *b*, *c* et *d*, dont les diagnoses sont incertaines, mais qui, cultivés parallèlement avec le microbe *a*, dans des bouillons contenant 10 grammes de nitrate de potasse par litre, ont transformé par jour les poids suivants de ce sel :

Microbe *a*	9gr,6
— *b*	2 ,8
— *c*	6 ,8
— *d*	5 ,6

D'autres microbes, mieux connus, jouissent des mêmes propriétés, bien qu'à un moindre degré; tels sont le microbe du choléra des poules, la bactéridie charbonneuse, le vibrion septique. Ceci prouve que les propriétés spécifiques de l'être ne sont pour rien dans le phénomène, qui semble lié au besoin général d'oxygène qu'ont tous les microbes, et qu'ils satisfont plus ou moins facilement aux dépens des matières qu'ils ont à leur disposition.

Nous retrouvons donc partout les mêmes phénomènes que plus haut, et il est difficile d'y voir autre chose que des réductions plus ou moins profondes, survenant dans la molécule du nitrate de potasse, dont la base est saturée et même sursaturée par l'acide carbonique produit par la substance hydrocarbonée.

Cette interprétation peut être maintenue, alors que les mêmes êtres, cultivés dans un liquide sans nitrate, ne donneraient pas d'hydrogène, car l'hydrogène n'est pas le seul corps réducteur qui se forme dans une culture d'un microbe anaérobie, et l'acide azotique cède son oxygène avec tant de facilité, que beaucoup de substances organiques peuvent le lui emprunter.

A ces notions, MM. Dehérain et Maquenne en ont ajouté une nouvelle qui complète l'échelle des produits de désoxydation de cet acide azotique. Ils ont montré que la réduction des nitrates dans les terres arables s'accompagne de la formation d'un peu de protoxyde d'azote.

Encore ici, comme dans les cas qui précèdent, il faut au microbe, en même temps que le nitrate, une matière organique. La réduction du nitrate ne peut donc s'accomplir que dans les sols riches. Elle exige aussi l'absence totale de l'air. Pour ces deux raisons, elle doit être rare dans la nature, et ne se rencontre que dans les terres submergées ou dans les terres bourbeuses. L'importance

agricole du phénomène est donc moins grande qu'on ne pourrait le croire au premier abord.

Comme M. Meusel, MM. Dehérain et Maquenne n'ont donné, comme preuve de l'intervention des ferments dans le phénomène, que l'arrêt qu'il subit sous l'influence du chloroforme ou de la chaleur, et sa reprise après un ensemencement. Au point où nous en sommes de la science, c'est une démonstration suffisante ; mais il serait préférable d'isoler l'espèce ou les espèces actives.

MM. Dehérain et Maquenne ont essayé d'arriver à ce résultat en ensemençant avec de la terre de jardin une solution de sucre à 1 p. 100, additionnée de nitrate de potasse. Leur ensemencement dans ces conditions réussit, car une fermentation commence. Mais elle a donné dans un cas de l'acide carbonique, du protoxyde d'azote et de l'azote, et, dans le même flacon additionné de liquide neuf, de l'acide carbonique et de l'hydrogène mélangés seulement d'une trace d'azote. Ceci prouve que l'espèce active n'était pas pure. L'identification qui en a été faite avec le *bacillus amylobacter* est purement arbitraire, étant basée surtout sur le dégagement d'hydrogène et l'odeur butyrique du liquide de fermentation. Nous savons qu'il y a beaucoup de ferments dégageant de l'hydrogène et produisant de l'acide butyrique. C'est un sujet à reprendre au moyen des procédés de culture de M. Pasteur.

Synthèse des faits qui précèdent. — Avant de quitter ce sujet, il n'est pas inutile de revenir brièvement sur les faits relatifs à la production et à la destruction des nitrates, pour en bien apprécier les causes, les effets et l'importance relative.

La production des nitrates est, comme nous l'avons vu, le fait de microbes aérobies. Elle peut s'accomplir encore dans des milieux très pauvres en oxygène. Sa seule condition est l'existence en assez grande abondance de matière organique dans le milieu nitrificateur. M. Boussingault a fait remarquer depuis longtemps que les pays à nitrières sont aussi des pays où la fécondité est très grande. Dans les environs de Tacunga, la fertilité est remarquable. Dans les champs salpêtrés de l'Espagne, on retire deux récoltes par an, une de nitre, l'autre de froment. Les rives du Gange produisent le salpêtre de houssage, à côté des plus belles plantations de tabac, de maïs et d'indigo.

C'est donc l'azote organique en réserve qui fournit seul l'azote nitrique. Les recherches de M. Boussingault ont en effet montré que l'azote de l'air n'intervenait nullement dans la réaction.

Mais par quel mécanisme se fait-elle? La matière organique est-elle oxydée directement, ou bien doit-elle se transformer tout d'abord en ammoniaque, par l'action de ses ferments qui, comme nous l'avons vu, donnent toujours naissance à cette substance? On ne le sait pas encore, mais la seconde hypothèse est plus probable que la première. La production de nitre exigerait alors la présence simultanée dans les nitrières, ou en général dans tous les sols où se produit du nitre, des ferments des matières azotées et du ferment ou des ferments nitrificateurs de l'ammoniaque. Pour être exactement renseigné sur ces faits, il faudrait avoir isolé le ferment nitrificateur, et avoir étudié son action sur de la matière organique d'un côté, sur un sel ammoniacal de l'autre.

Quoi qu'il en soit du mécanisme, il résulte des recherches de M. Boussingault, confirmées par celles de M. Schlœsing, que pendant la nitrification, tout l'azote organique disparu ne se retrouve pas à l'état d'azote nitrique. Une portion d'azote a pris l'état gazeux. De là une perte variable suivant les cas, mais toujours sensible. A quoi est-elle due? on ne le sait.

On a le droit de l'attribuer à l'action des ferments qui détruisent la matière organique. Les recherches de Dietzell ont montré que, pendant la putréfaction d'un grand nombre de produits animaux, il se dégage de l'azote. Je n'ai jamais observé de dégagement de ce gaz avec les microbes anaérobies que j'ai étudiés. Mais rien ne dit qu'il n'y en ait pas amenant à ce degré la destruction de la molécule organique.

Toutefois, Dietzell, dans ses recherches, que nous retrouverons bientôt, ne s'est pas mis en garde contre l'existence possible des nitrates dans les liquides ou solides qu'il soumettait à la putréfaction ; or, nous savons que la destruction de ces nitrates par les ferments anaérobies s'accompagne toujours d'un dégagement d'azote. Ceci nous amène à penser qu'il peut en être de même dans les sols, et que la perte d'azote constatée par M. Boussingault tient à ce que dans tout sol non remué peuvent se trouver réunies, temporairement et par places, les conditions de réduction de nitrates que nous connaissons, à savoir de la matière organique, l'absence d'oxygène, et la présence d'un microbe anaérobie. Les deux procès inverses de formation et de destruction des nitrates pourraient donc s'accomplir concurremment dans le même sol, non pas en un même point, puisqu'ils sont contradictoires, mais en des points différents. Suivant celui des deux qui domine, on a une nitrification ou une dénitrification.

Ce dernier phénomène doit pourtant, en résumé, être plus rare que l'autre; il exige des conditions plus étroites et plus rarement réalisées. Mais si peu qu'il intervienne, on voit qu'il réduit la proportion totale d'azote assimilable à la surface de la terre.

Sans doute tout l'azote nitrique ne reprend pas l'état gazeux pendant la dénitrification ; une portion se retrouve, comme l'ont montré les recherches de M. Boussingault et celles de M. Schlœsing, à l'état d'ammoniaque; mais une portion plus ou moins considérable repasse à l'état gazeux, c'est-à-dire sous une forme que les recherches de M. Boussingault ont prouvé être inassimilable.

Envisagés à ce point de vue, les deux phénomènes de nitrification et de destruction des nitrates se ressemblent comme résultat; s'ils sont essentiellement distincts, quant à leur nature et à leurs conditions d'existence, ils ont tous deux pour effet de ramener à l'état gazeux une portion de l'azote nitrique ou de l'azote ammoniacal du sol.

Or si, d'un côté, l'azote de l'air est inassimilable et si, d'un autre côté, la nitrification n'est jamais une création de nitre au moyen des éléments, mais seulement une transformation en nitre d'une matière organique antérieurement produite, on doit conclure que la résultante des actions qui créent où détruisent des composés azotés dans le sol est une perte réelle en éléments assimilables. Il faut donc qu'il y ait quelque part des causes réparatrices, qui ramènent à l'état de

composés nitriques ou ammoniacaux l'azote renvoyé à l'état gazeux dans l'atmosphère.

De ces causes, la plus puissante et la plus incontestée est la recombinaison de l'oxygène et de l'azote sous l'influence de l'étincelle électrique. C'est sur elle que M. Boussingault a très justement beaucoup insisté. Les recherches de Schönbein, confirmées par celles de M. Warington, en laissent supposer une autre, c'est l'action des flammes ou en général de la chaleur sur les gaz de l'air. De l'eau évaporée au contact de l'air se charge de nitrate, et cela sous l'action de la flamme du foyer. Le seul doute qui puisse exister sur le caractère précis de l'action qui se produit vient de l'existence possible dans le gaz de l'éclairage de produits cyanurés, dont la transformation en ammoniaque et en acide nitrique est plus facile que celle de l'azote libre. Signalons enfin, pour terminer, les expériences bien connues de M. Berthelot sur les combinaisons azotées réalisées sous l'influence des effluves électriques. Il y aurait à faire de ces divers côtés des recherches intéressantes, rien ne pouvant nous toucher davantage que la connaissance précise des causes qui ramènent l'azote de l'air à l'état assimilable.

BIBLIOGRAPHIE

P. Miquel. — Fermentation sulfhydrique. *Bull. de la Soc. chim.*, t. XXXII, p. 127, 1879.

A. Étard et L. Olivier. — De la réduction des sulfates par les êtres vivants. *Comptes rendus*, t. XCV, p. 846, 1882.

Meusel. — Sur la formation des nitrites. *Comptes rendus*, t. LXXXI, 1875.

Gayon et Dupetit. — Sur la fermentation des nitrates. *Comptes rendus*, t. XCV, 9 octobre 1882.

Dehérain et Maquenne. — De la réduction des nitrates dans les terres arables. *Comptes rendus*, t. XCV, pp. 691, 732, 854.

Dietzell. — Formation d'azote libre pendant la fermentation. *Bericht. der deutsch. chem. Gesell.*, t. XV, p. 551, 1881.

Gayon et Dupetit. — Sur la transformation des nitrates en nitrites. *Comptes rendus*, t. XCV, p. 1365.

Plauchud. — *Comptes rendus*, 29 janvier 1877 et 26 décembre 1882.

CHAPITRE LXIV

MARCHE GÉNÉRALE DE LA PUTRÉFACTION

Les notions générales exposées dans le courant de ce livre nous permettent maintenant d'aborder avec quelque sûreté l'étude d'un phénomène complexe, encore un peu confus dans son ensemble et dans ses détails, à propos duquel nous devrons nous tenir plus dans le vague que sur aucune des questions déjà traitées, mais dont l'importance est telle que nous ne pouvons le passer sous silence. Nous voulons parler du phénomène de la putréfaction.

Le sens que l'on donne à ce mot dans le langage usuel est lui-même très mal défini. Toutes les fois qu'une substance organique s'altère en répandant des gaz infects, qu'elle soit animale ou végétale, on dit d'ordinaire qu'elle se putréfie. Pour quelques personnes au contraire, et même pour quelques savants, il n'y a putréfaction vraie (*Faulniss*) qu'avec une matière d'origine animale. Les matières végétales subissent seulement la pourriture (*Vermoderung*), une combustion lente, une *érémacausie*, la différence principale entre les deux phénomènes étant que l'odeur du second est supportable, faible ou même nulle. Il est certain que l'odeur du fumier est plus agréable que celle d'un charnier, mais pour accepter cette distinction comme suffisante, il faudrait avoir oublié l'odeur infecte que répandent, après quelques jours de macération, certaines infusions végétales, par exemple celles de pois ou d'asperges, dont la putridité est tellement intense, que l'examen au microscope d'une seule goutte de liquide est extrêmement pénible, et produit des nausées, pour peu qu'elle dure.

Ce que nous avons appris au chapitre précédent nous prouve d'ailleurs que ce développement de gaz désagréablement odorants est une fonction composée de la nature des êtres qui entrent en action et de la nature de la substance sur laquelle ils agissent. Il ne doit donc pas figurer en ligne de compte. Il peut y avoir des putréfactions sans odeur et des putréfactions foncièrement identiques, mais très désagréablement odorantes. Il faut donc chercher ailleurs la définition du phénomène.

Or, lorsqu'on l'examine de près, on peut voir qu'il ne diffère de tous ceux que nous avons examinés jusqu'ici que par la nature complexe de la substance qui y prend part. Un liquide organique, une masse musculaire, le corps entier d'un

animal renferment un grand nombre d'éléments fermentescibles, pouvant subir chacun plusieurs modes de décomposition sous l'influence des microbes. Chacune de ces transformations, si elle était bien connue, porterait un nom spécial, emprunté à la nature de l'être qui y préside ou à celle des produits qu'elle donne. C'est quand il s'en produit plusieurs, simultanément ou successivement, dans une masse de composition complexe, qu'on donne à l'ensemble le nom de *putréfaction.*

Ces quelques considérations enlèvent toute espérance de donner jamais au mot de putréfaction un sens précis. Elles nous montrent aussi que la voie des découvertes dans cette étude est de séparer et d'étudier individuellement les divers modes de fermentation dont les divers éléments d'une même substance organique complexe peuvent devenir le siège, de faire, en d'autres termes, pour les diverses matières albuminoïdes, ce que nous avons essayé de faire plus haut pour la caséine. Sans doute le problème n'est pas facile, mais il n'est pas insoluble, et de plus, il semble qu'il ne puisse pas être abordé autrement.

En attendant qu'il soit résolu, nous désignerons sous le nom de putréfaction les fermentations avec dégagements gazeux odorants ou non odorants, dans lesquelles sont intéressés des mélanges de substances organiques azotées, et puisque nous ne connaissons pas par le détail les phénomènes qui s'y accomplissent, les êtres qui y interviennent, les transformations individuelles auxquelles ils donnent lieu, nous allons examiner l'action dans son ensemble. Les notions que nous possédons nous permettent de tracer d'avance sa marche générale dans certains cas bien définis, que nous allons d'abord passer en revue.

Putréfaction dans un liquide organique. — Le plus simple de ces cas est celui où nous soumettons à la putréfaction, en l'abandonnant à elle-même dans un endroit chaud ou de préférence dans une étuve, une infusion organique, telle par exemple qu'un bouillon de viande ou, de préférence, la macération faite à froid de pois ou d'asperges dont nous parlions plus haut.

Nous y trouverons, au bout de quelques jours, un dégagement gazeux plus ou moins abondant, accompagné d'odeur putride. En examinant le liquide, nous verrons à sa surface une couche gélatineuse, d'épaisseur plus ou moins grande, et dans l'intérieur un trouble et une agitation qui témoignent de l'énergie de l'action qui s'y accomplit.

Une goutte de la couche glaireuse supérieure, examinée au microscope, nous montrera qu'elle est peuplée d'un nombre prodigieux d'êtres, appartenant en général aux espèces les plus minimes des infusoires. Nous y trouverons d'ordinaire des monades, des bactéries très ténues, immobiles ou mobiles, quelques-unes de ces dernières animées de mouvements tellement rapides qu'on ne peut les suivre, et qu'on les devine plus qu'on ne les voit lorsqu'elles parcourent le champ du microscope. Elles le traversent presque comme la mèche d'un fouet traverse l'air, et c'était à ces espèces, à la fois rapides et vibrantes, qu'Ehrenberg avait appliqué à l'origine le mot de vibrion, depuis sensiblement détourné de son origine première, et employé aujourd'hui couramment à désigner des êtres beaucoup plus gros, à mouvements plus lents, plus onduleux, plus mesurés et plus doux.

A côté de ces bactéries ou de ces bacillus très ténus, beaucoup d'infusions, de préférence les infusions végétales, présenteront des spirillums, à mouvements plus ou moins rapides, et enfin, si elles vieillissent, et si elles ne sont pas devenues putrides, des infusoires plus élevés en organisation qui attendent que le milieu se soit enrichi en proies vivantes ou en matière organique ayant subi un commencement d'élaboration par les premiers êtres qui s'en sont nourris.

Il n'est pas difficile de deviner dans ces êtres qui vivent ainsi à la surface du liquide des espèces aérobies. Elles manqueront si la putréfaction s'accomplit en vases clos, ou dans des flacons à long col, où le dégagement de gaz intérieurs empêche l'air de pénétrer. Elles seront plus abondantes si la fermentation se fait en vases largement ouverts à l'air, et, ainsi qu'il est facile de le prévoir, l'odeur de la masse sera d'autant moins vive et désagréable que ces espèces aérobies seront plus prédominantes.

Leur activité comburante, la puissance et la rapidité avec laquelle elles absorbent l'oxygène, sont telles qu'aucune portion de ce gaz ne peut parvenir jusqu'aux couches profondes du liquide, où ne peuvent vivre, dès lors, que des anaérobies purs appartenant en grande majorité au monde de ce que nous appelons des bacillus ou des vibrions dans ce livre. Les micrococcus sont en effet en général aérobies. Les levures sont surtout des agents de destruction des matières hydrocarbonées, en particulier du sucre, et n'interviennent pas dans la fermentation des matières azotées. Les bactéries sont surtout aérobies. Il en est de même des gros infusoires. Nous ne trouvons guère, comme agents anaérobies de la destruction des matériaux de l'organisme vivant, que des êtres analogues à ceux que nous avons rencontrés comme ferments de la caséine, et il n'est pas difficile de deviner ce que la ressemblance et l'air de famille que présentent ces êtres ajoute de difficultés à leur étude.

Ces êtres, agents de fermentation avec dégagement gazeux, se seraient développés seuls si on avait fait bouillir l'infusion organique et si on l'avait soustraite ensuite à l'action de l'air. Dans une infusion préparée à la façon ordinaire, qu'on a pu faire bouillir, mais qu'on a laissé refroidir et s'aérer, le premier peuplement ne se fait pas par ces êtres anaérobies, il se fait par les êtres aérobies de la surface, qui ont bientôt fait d'absorber tout l'air en dissolution. Si l'infusion est en vase clos, ces premières générations périssent et tombent peu à peu au fond du vase après s'être créé un milieu où leur vie est impossible. Elles laissent le champ libre et préparé pour les ferments qui vivent sans air, et qui se développent si le liquide en renfermait des germes féconds. Si l'infusion a au contraire le contact de l'air par une surface un peu large et accessible, les bactéries aérobies ne périront, après la disparition de l'oxygène, que dans la masse du liquide. Encore beaucoup d'entre elles, appelées par leur instinct, auront émigré peu à peu dans les couches supérieures, et continueront à s'y multiplier à l'infini, parce que, là, elles ont le contact de l'air. De sorte, qu'en résumé, nous pourrons distinguer, dans notre liquide en voie de putréfaction, deux couches, deux zones où se produisent des actions différentes. En haut des actions comburantes, au-dessous des actions réductrices, et des dégagements gazeux dans lesquels, à côté d'un corps complètement brûlé, tel que l'acide carbonique, on trouvera presque toujours des gaz réducteurs, tels que l'hydrogène ou diver

hydrogènes sulfurés ou phosphorés, et quelquefois même, comme nous pouvons le prévoir, de l'azote.

Dans les conditions que nous venons de décrire, le phénomène de destruction complète de la matière organique sera plus rapide et plus complet que s'il s'opérait à l'abri de l'air. Les ferments anaérobies, nous le savons, arrêtent fatalement leur action devant certaines matières encore complexes, mais qui ne peuvent plus alimenter leur vie. Ces mêmes substances peuvent être brûlées complètement par les aérobies, qui, grâce à l'oxygène de l'air, y trouvent encore de la chaleur disponible. Les êtres de la surface et ceux de la profondeur se prêtent donc un concours mutuel. Si ceux de la profondeur prennent momentanément le dessus, ceux de la surface s'arrêtent, parce que les gaz qui se dégagent ralentissent ou empêchent l'arrivée de l'air, mais ils se remettent à l'œuvre aussitôt que la fermentation au-dessous d'eux s'achève ou même seulement se ralentit. Ils brûlent les produits définitifs de l'action des anaérobies, brûlent même les débris des ferments anaérobies eux-mêmes, sont ensuite brûlés et détruits à leur tour par les ferments de la cellulose ou les végétations cryptogamiques, et c'est ainsi que par la succession d'un nombre quelquefois considérable d'êtres, dont chacun produit de l'acide carbonique aux dépens de la matière organique présente et en diminue par conséquent le poids total, en laissant comme résidu de son action des matériaux morts et vivants qui sont repris en sous-œuvre par une espèce nouvelle, c'est ainsi, disons-nous, que s'accomplit le retour intégral à la nature inorganique de toute la matière organique ayant fait partie, à l'origine, de l'infusion dont nous avons examiné le mode de destruction.

Putréfaction des substances solides. — Examinons maintenant le cas un peu plus complexe de la putréfaction d'une masse solide. Prenons par exemple un morceau plus ou moins volumineux de chair musculaire. Il est facile de voir qu'il faudra ici le concours d'un élément nouveau, d'une diastase qui dissolve la matière solide, et en fasse un milieu alimentaire pour les ferments. Ces diastases, en général multiples, sont sécrétées par les ferments eux-mêmes, qui trouvent un premier terrain d'implantation dans les liquides qui humectent le morceau de viande. Ces liquides sont surtout accessibles par l'extérieur, c'est là aussi que les germes sont plus abondants, car si le morceau de viande provient d'un animal sain, ses couches profondes sont toujours, à l'origine, absolument dénuées de germes.

C'est donc par la surface que l'ensemencement se fera, et on verra s'y former une couche plus ou moins épaisse, en général d'aspect grisâtre, formée des mêmes êtres que ceux que nous avons rencontrés tout à l'heure à la surface de notre infusion. Quelques-uns de ces êtres, à la fois aérobies et anaérobies, pourront profiter des fissures du morceau, des interstices des muscles, des vaisseaux sanguins et des canaux lymphatiques, pour s'enfoncer dans les profondeurs. Comme tous sont en général producteurs de diastases, ils dissoudront peu à peu autour d'eux la matière solide qu'ils rencontrent, et se feront ainsi un terrain de plus en plus favorable de développement. La couche de microbes, superficielle à l'origine, deviendra plus épaisse en dissolvant le fragment de chair à son voisinage, et le recouvrira d'une pâte demi-fluide, de consistance gélatineuse, d'o-

deur spéciale, formée d'un mélange de cellules vivantes et de matériaux solides de la viande en voie de désagrégation. Des fusées de ce même *deliquium* pénètreront le morceau dans diverses directions, sur les voies suivies par les microbes, et en rendront la diffusion plus facile. Suivant que les espèces présentes sécrèteront des diastases plus ou moins actives, suivant que l'air aura un accès plus ou moins facile, suivant la température, l'état d'humidité ou de sécheresse de l'air, on aura, ou bien une combustion surtout superficielle dégageant peu d'odeur, soit une véritable liquéfaction de la masse solide, donnant naissance à une bouillie infecte, soit une mortification avec dessiccation, comme celles qui s'accomplissent si facilement sous l'action des mucédinées, et qui ne s'arrêtent que lorsque la matière organique est devenue une pincée de cendres. Dans tous les cas les phénomènes sont les mêmes. Leur mode seul subit des variations.

Nous voyons que dans un morceau de viande, tel que celui dont nous venons d'écrire l'histoire, la putréfaction commence nécessairement par l'extérieur. Qu'arriverait-il si on empêchait cet envahissement superficiel? La chose est facile. Il suffit d'enfermer le morceau, coupé bien droit et sans meurtrissures, dans un vase dont l'air est saturé de vapeurs alcooliques, en présence desquelles le premier développement des microbes est impossible. Un autre antiseptique volatil quelconque, pénétrant dans les anfractuosités du morceau où peuvent s'être logés des germes, donnerait le même résultat. Il suffit même quelquefois, comme l'a montré M. Pagliari, de rouler le morceau dans un papier imprégné d'acide benzoïque, et de l'enfermer sans autres précautions dans un vase clos. Que devient un morceau de viande préservé ainsi de l'envahissement des germes extérieurs ? Conserve-t-il son état, sa structure et ses propriétés?

On ne saurait espérer un pareil résultat. Il est impossible, en effet, aux températures ordinaires, de soustraire l'intérieur de cette chair à la réaction des solides ou des liquides les uns sur les autres. La vie des cellules, celle des fibres se prolonge quelque temps, se manifeste par un dégagement d'acide carbonique et l'apparition de produits nouveaux. C'est le même phénomène que celui que nous avons constaté au chapitre XXI, sur les fruits qui respirent et mûrissent en dehors de l'arbre qui les a portés. De cette vie continuée, des réactions dont elle s'accompagne, vont résulter dans notre morceau de viande de petites quantités de substances nouvelles, qui ajouteront à la saveur de la viande leur saveur propre ; une couleur spéciale, un peu grisâtre, remplacera la couleur rosée de l'origine. On dit alors que la viande se faisande, bien que dans les cadavres d'oiseaux qu'on laisse se faisander, l'odeur ait en partie une autre origine. L'odeur de la gangrène, qu'on rencontre quelquefois chez les êtres vivants, a plus d'analogie avec celle qui nous occupe, et cela ne peut surprendre, car la gangrène apparaît quelquefois dans des masses musculaires protégées par la peau contre tout envahissement extérieur, où le sang n'apporte pas de germes vivants, mais où il ne circule plus, et qu'il laisse livrées aux réactions purement chimiques que peuvent exercer leurs divers éléments les uns sur les autres.

Tous ces phénomènes s'accomplissent sans aucune intervention des êtres vivants. Il n'y en a pas dans le morceau de viande conservé comme nous l'avons

dit, l'inspection microscopique la plus soigneuse n'en montre pas non plus dans les masses gangrenées, lorsqu'elles sont étudiées dans les portions protégées contre la présence des germes extérieurs. La gangrène, loin d'être une putréfaction, est donc uniquement l'état d'un organe ou d'une partie d'organe conservé, malgré la mort, à l'abri de la putréfaction, et dont les solides et les liquides réagissent physiquement et chimiquement les uns sur les autres, en dehors et en l'absence des phénomènes normaux de la nutrition.

Putréfaction dans les cadavres. — Faisons maintenant un pas de plus, et demandons-nous comment revient à la nature inorganique, comment fait retour à l'atmosphère et à l'eau le cadavre d'un animal abandonné à lui-même. Le tableau général de l'action qui intervient est facile à tracer.

Nous savons déjà que, dans les conditions ordinaires, le corps de l'animal est fermé à l'introduction des germes des êtres inférieurs. Ce n'est point par là que commence l'attaque. Elle vient de l'extérieur et du canal digestif. Toute la surface de l'animal est couverte des poussières que l'air charrie, parmi lesquelles nous savons qu'il y a des germes de microbes. Mais le canal intestinal est rempli dans toute sa longueur non plus seulement de germes, mais de vibrions tout développés que Leuwenhoeck avait déjà aperçus. Ces vibrions ont une grande avance sur les germes de la surface. Ils sont producteurs de diastases qui peuvent liquéfier non seulement la caséine, mais la fibrine. Ils tapissent la paroi et remplissent l'intérieur d'un tube beaucoup moins résistant que la peau. Ils pénètrent même, comme nous l'avons déjà dit, dans la profondeur de certains conduits débouchant dans l'intestin, par exemple dans le canal pancréatique. Ils se trouvent donc à l'état vivant en présence de cellules mortes dont les réactions ont changé, que le sang n'anime plus. C'est par elles que commence la dissolution des tissus. Une fois le canal digestif perforé, les êtres microscopiques arrivent au contact des organes. Là, les mêmes diastases agissent encore. La fibrine commence par se ramollir, et se transforme ensuite en une sorte de bouillie nutritive. C'est le même phénomène que celui de la dissolution du caséum, accompli en vertu du même mécanisme. Des gaz putrides se dégagent; la peau, résistante jusque-là, se gonfle après s'être ramollie et se déchire. L'air peut désormais pénétrer dans la masse en décomposition, et ici encore, grâce au concours des aérobies et des anaérobies, tout ce qui était matière organique insoluble dans l'eau sera devenu, au bout d'un temps plus ou moins long, de l'eau, du carbonate d'ammoniaque soluble dans l'eau, de l'acide carbonique et d'autres gaz qui passeront dans l'air, enfin une masse de cendres dont la partie insoluble seule ne rentrera pas d'elle-même, ou ne rentrera que très tardivement dans la grande circulation à laquelle s'alimente toute vie à la surface du globe.

Tel est le sens général des phénomènes qui vont s'accomplir. Mais, si on veut pénétrer dans le détail, on rencontre des variations très grandes dont il importe de se faire une idée, pour les mettre en rapport avec les changements dans le mode de pénétration et dans la nature des êtres qui y président.

Examinons donc les phénomènes consécutifs à la mort. Le premier effet qui se produit, de cinq à douze heures après la mort, est l'apparition de la rigi-

dité cadavérique. Les microbes n'y ont aucune part; elle est sans doute attribuable, comme l'ont montré W. Kühne et Brucke, à une formation d'acide, provoquant la coagulation de l'albumine des muscles, et due à ce que nous avons appelé plus haut la vie continuée des cellules du tissu. Il est un fait qui est d'accord avec cette explication du phénomène, c'est que les muscles fatigués au moment de la mort, ceux qui sont tétanisés, ceux des animaux forcés, des soldats tombant sur le champ de bataille, acquièrent bien plus tôt la rigidité que les autres. Or on sait que la fatigue d'un muscle s'y accompagne de la formation d'un excès d'acide, lactique ou autre.

D'après Brown-Séquard, l'apparition de la rigidité cadavérique et celle de la putréfaction sont d'autant plus rapides que le muscle était plus fatigué au moment de la mort. Inversement, certains poisons de la cellule, comme l'oxyde de carbone, l'hydrogène sulfuré, la mort brusque provoquée par un coup de foudre, et aussi quelques maladies aiguës comme la fièvre puerpérale, la septicémie, retardent ou même empêchent la rigidité cadavérique.

C'est après la disparition de la rigidité, c'est-à-dire du deuxième au troisième jour, que commence à apparaître l'odeur propre des cadavres, qui n'est pas encore l'odeur propre de la putréfaction. On voit alors se former sur la peau du ventre des taches verdâtres dues à des hémorragies sous-cutanées, par suite d'un commencement de destruction des tissus. Ces tâches se foncent en couleur et deviennent plus nombreuses, virent ensuite au vert brun ou au vert rouge, et s'étendent sur toute la surface du corps. Elles sont un témoignage de la concentration initiale de l'activité des ferments dans la région abdominale. Bientôt on trouve en effet les parois du ventre gonflées par l'action des gaz. En même temps, les tissus se ramollissent, se colorent en noir en se laissant pénétrer par le sang, que ne retiennent plus les vaisseaux. Ce sont les premiers symptômes de dissolution générale de l'organisme, sous l'action des diastases dont les ferments de l'abdomen, et ceux qui se sont frayé un passage au dehors, saturent peu à peu tous les tissus.

Tous ces phénomènes préliminaires s'accomplissent à peu près de la même façon, que le cadavre de l'animal soit laissé à l'air, plongé sous l'eau ou enfoui dans la terre, mais le tableau change pourtant suivant celle de ces conditions qui se trouve réalisée.

Putréfaction à l'air libre. — Un cadavre humain exposé à l'air libre, dans un lieu à température moyenne, est, au bout de huit jours, coloré en vert sale sur toute sa surface, et répand une odeur putride marquée. Son épiderme est soulevé par des ampoules remplies de sérum, et a même pu disparaître sur certains points. Le ventre est ballonné, la poitrine bombée par les gaz, et le tissu cellulaire plus ou moins emphysémateux sur tous les points du corps. A ce moment, tous les tissus ou à peu près sont envahis par les ferments. Au bout de quelques jours, le dégagement gazeux est devenu évident dans toute la masse des tissus. Les yeux disparaissent sous le gonflement des paupières, des joues et du nez. Le pénis se gonfle, les testicules atteignent quelquefois la grosseur de la tête d'un enfant. On voit le rôle considérable que jouent les anaérobies,

jusqu'ici protégés contre le contact de l'air par l'épiderme et le derme, qui ne se sont pas encore rompus.

Si le cadavre est abandonné en plein champ, c'est le moment où il commence à être en proie aux êtres divers, vers de terre, fourmis, rats, chiens et animaux et oiseaux de proie, que son odeur a attirés auprès de lui. Les déchirures produites par toutes ces attaques permettent aux gaz de s'échapper, aux liquides de s'écouler, à l'air de pénétrer dans la masse et d'en assurer, comme nous l'avons dit, la disparition plus rapide et plus complète. Mais elles n'ont pas besoin d'être provoquées par une cause extérieure, et elles peuvent provenir d'un mécanisme naturel dans l'action qui se produit.

Après quatre à six semaines, en effet, on trouve, dans nos climats, le cadavre à l'état de ramollissement putride. La peau, restée la plus résistante, montre pourtant de grandes fentes au niveau de la poitrine et du ventre. Elle a fini par éclater sous la pression des gaz. Tous les organes au-dessous sont devenus une bouillie d'une couleur rouge brun sale, la forme du corps et même les contours des membres sont complètement effacés, la structure histologique n'est même plus que difficilement reconnaissable. La matière organique n'a pas encore disparu, et la vie des ferments n'en a transformé qu'une partie, mais leurs diastases ont dissous tous les organes et ont préparé aux microbes une bouillie nutritive, dont la disparition n'est plus qu'une affaire d'humidité, de chaleur et de temps.

Putréfaction dans la terre. — Pour le cadavre enfoui dans le sol, les premières phases de la putréfaction sont celles de tout à l'heure. Il n'y a de nouveau que l'apparition sur la peau et les surfaces libres d'une foule de végétations cryptogamiques diverses, parmi lesquelles dominent les aspergillus et les penicilliums. Il doit s'y mélanger sans doute des plaques et des colonies de microbes aérobies. L'oxygène n'est pas tout à fait absent aux profondeurs où l'on inhume d'ordinaire, et le cadavre, au lieu d'être exposé à l'air, est en contact avec un milieu poreux, humide et absorbant.

C'est de là que viennent surtout les différences. Le travail des microbes se fait comme à l'air, et conduit aussi à des dégagements gazeux et à une sorte de liquéfaction, de colliquation de l'ensemble sous l'action des diastases. Mais cette dissolution est ici toujours moins complète et moins profonde qu'à l'air, l'eau nécessaire étant constamment soutirée, soit par les végétations cryptogamiques, soit par l'aspiration capillaire du milieu ambiant. Au lieu d'une bouillie, on a dès l'abord une masse pâteuse où tous les organes mous sont confondus. Plus tard, la peau, les muscles et les tissus élastiques se transforment, sans doute sous l'action dominante des végétations cryptogamiques, en une masse à consistance d'amadou, qui se brise en petits fragments et se mélange à la terre environnante.

Cette absorption régulière par le sol des tissus en voie de destruction et des liquides en voie de décomposition favorise la pénétration de l'air, l'invasion des microbes aérobies, la disparition ou la neutralisation des produits de putréfaction qui pourraient empêcher l'action de se continuer, et rend par suite la disparition du cadavre assez rapide. Elle l'est pourtant beaucoup moins, il

est facile de le comprendre, que s'il avait été laissé exposé à l'air. Nous aurons, du reste, au chapitre LXXI, à retrouver et à poursuivre cette idée.

Formation du gras de cadavre. — Fourcroy a le premier observé en 1776, dans les fouilles faites au cimetière des Innocents, où les cadavres étaient inhumés sans cercueil et entassés les uns sur les autres, un mode de décomposition particulier, qui semble rare, mais a pourtant été retrouvé depuis. Toute la masse musculaire semble transformée en une masse homogène ayant la couleur et la consistance de la cire ou plutôt du suif, et conservant l'aspect du muscle aux dépens duquel elle s'est formée.

Cette matière, qu'on nomme adipocire ou gras de cadavre, renferme, d'après Wetherill, une sorte de corps gras, d'après Virchow, des acides gras, solides et cristallisés. Elle paraît être de poids plus faible que le muscle qu'elle remplace, bien que cette comparaison n'ait été faite avec précision dans aucun cas. Mais tous les observateurs signalent sa faible densité. Si elle occupe un aussi grand volume, c'est sans doute qu'elle forme un magma cristallin analogue à ceux du lactate de chaux dans ses dissolutions évaporées.

Cette comparaison du poids de l'adipocire à celui du muscle a une certaine importance dans la question de l'origine de cette substance. Si, en effet, malgré son volume, elle n'a pas un poids supérieur à celui de la matière grasse existant dans le muscle qui l'a fournie, son origine est facile à saisir. Chevreul a montré qu'on pouvait en obtenir de pareille en saponifiant par l'ammoniaque les graisses animales. Or nous avons, dans un cadavre en putréfaction, d'un côté la matière grasse, de l'autre les ferments des matières albuminoïdes, qui, comme ceux de la caséine que nous avons étudiés, fournissent précisément du carbonate d'ammoniaque. Il y a donc tout ce qu'il faut pour expliquer la formation du gras de cadavre. Mais si l'adipocire a un poids supérieur à celui qui résulterait de cette origine, il faut recourir, pour en expliquer la formation, à l'intervention de certains ferments qui feraient de la matière grasse aux dépens de la matière albuminoïde du muscle. Or, on ne connaît pas encore de ferments ayant ces propriétés. Il est vrai que ceux que nous connaissons donnent, dans leur action sur les matières protéiques, des acides de la série grasse, tels que les acides acétique, butyrique, valérianique, etc., et qu'il n'y a, par suite, aucune raison de croire qu'il n'existe aussi certains ferments fournissant de l'acide palmitique ou de l'acide stéarique. Mais il n'y a aussi aucune raison de croire à leur existence. Nous avons vu que M. Blondeau, qui avait cru en saisir de pareils à l'œuvre, s'était trompé. C'est un problème non encore résolu, et digne pourtant d'exercer la sagacité d'un savant. La question de la transformation possible de substances azotées en matières grasses est une des plus importantes que puisse soulever la chimie biologique.

Putréfaction sous l'eau. — Chez les noyés, les conditions de milieu sont toutes différentes. La température est maintenue plus basse et plus constante au contact du corps, ce qui retarde à la fois l'apparition et la marche de la putréfaction. L'air n'est plus présent, et les anaérobies seuls peuvent prendre possession du terrain. Le corps non seulement ne se dessèche pas, mais s'im-

bibe d'eau qui y pénètre soit par diffusion, soit par l'estomac, soit par les cavités pulmonaires remplies d'eau pendant les efforts de respiration que fait le noyé avant de mourir. Le sang en particulier devient diffluent, presque incoagulable, et circule dans les vaisseaux en obéissant aux lois de la pesanteur. Enfin, et surtout si l'eau est courante, elle empêche l'envahissement superficiel, et la putréfaction commence plus sûrement ici que partout ailleurs dans le canal intestinal. Elle amène le ballonnement de la masse intestinale et fait du cadavre une sorte de flotteur où les parties les plus lourdes, la tête et la cavité thoracique, occupent la portion la plus déclive. Le sang, fluide comme nous l'avons dit, se réunit dans ces régions, les pénètre, et c'est par la tête, le cou, les épaules que débutent les taches vertes d'abord et plus tard rougeâtres que nous avons signalées dans les cadavres laissés à l'air libre.

Lorsque le ballonnement du corps est suffisant, le cadavre du noyé arrive à fleur d'eau. Jusqu'à ce moment, la marche des phénomènes a été plus lente qu'à l'air. Casper admet qu'en moyenne, et toutes choses égales d'ailleurs, une semaine de séjour à l'air équivaut à deux semaines placées sous l'eau et à deux mois dans la terre; mais aussitôt que le cadavre a une partie exposée à l'air, et surtout s'il est totalement retiré de l'eau, la putréfaction devient très active. L'élasticité que la peau a gardée, lui permet de s'étendre beaucoup plus que dans l'air, et le corps devient monstrueux. Le sérum transsude sous l'épiderme, le tissu cellulaire fortement distendu est tout emphysémateux, de larges poches de gaz font saillie en divers points et fournissent, lorsqu'on les pique avec une épingle, un jet qui sort en sifflant et est quelquefois inflammable. Puis les phénomènes se continuent comme dans un cadavre exposé à l'air.

Momification. — Les phénomènes que nous venons de passer en revue ne peuvent naturellement pas avoir dans tous les cas le même *facies*, la même constance ou la même durée. L'époque d'apparition de la putréfaction dépend évidemment de la température, et est variable d'une période de l'année à l'autre. A un même moment, elle dépend du genre de mort. Dans les maladies à ferments, le charbon, le typhus, les affections septiques, la fièvre puerpérale, la putréfaction survient avec une rapidité remarquable, ce qu'il faut évidemment rapporter à ce que le corps tout entier est habité avant la mort par les ferments qui y produisent la maladie.

Les conditions variables de conservation du cadavre sont aussi pour beaucoup dans ce phénomène. On sait même qu'il est des cas où les cadavres, sans se corrompre ou en se corrompant d'une façon spéciale, arrivent à se momifier et à s'assurer une durée presque indéfinie. Je ne parle pas de ces pratiques des Égyptiens, qui revenaient à enlever au cadavre la portion la plus putrescible, les intestins, et à les remplacer par des mélanges balsamiques qui pénétraient peu à peu les tissus et les préservaient de l'envahissement des ferments pendant un temps assez long pour que la dessiccation fît son œuvre. Je ne parle pas non plus des pratiques modernes, qui imbibent le corps d'un liquide conservateur, empêchant d'une manière absolue le développement des ferments. Je parle de ces caveaux, de ces chambres mortuaires, comme il en existe en divers points de l'Europe, et où les cadavres, sans traitement aucun et sans précautions spé-

ciales, se dessèchent sans se putréfier. Tels sont ceux de l'hospice du mont Saint-Bernard, ceux du mont Saint-Michel, du cloître des capucins à Palerme, et d'une foule d'autres localités moins célèbres.

Tous ces caveaux, placés, comme on peut le deviner, dans des conditions très diverses au point de vue de la température, se ressemblent en ceci, qu'ils contiennent tous un air très sec, et où l'évaporation doit être active. Les cadavres qu'on y transporte doivent perdre rapidement leur eau par la surface. La putréfaction n'en commence pas moins chez eux, et envahit ordinairement sans difficulté les intestins, qu'on trouve dans la momie à l'état de masse noirâtre, homogène, ou du moins à texture méconnaissable, remplissant à moitié la cavité abdominale ; mais avant que les ferments n'aient envahi les muscles ou n'y aient amené des modifications sérieuses, la dessiccation rend leur vie impossible. C'est par un mécanisme analogue que les cadavres abandonnés par les caravanes dans les déserts de l'Arabie et de l'Afrique se dessèchent presque sans pourrir, dans le sable et au soleil équatorial.

Pourtant, dans ces momies, le sang s'extravase toujours, colore les tissus et donne à la peau une couleur rouge brun, analogue à celle des viandes rôties. Cette peau se dessèche, en se collant contre les os, et serrant les masses musculaires, qui se dessèchent aussi et diminuent de volume. La forme générale du corps se conserve. Il en est de même pour les traits de la face. L'odeur a quelque chose de rance, et rappelle celle du fromage, mais ne présente rien de putride. Dans ces tissus desséchés et devenus cassants, aucune putréfaction ne peut évidemment se produire.

Il nous resterait, pour terminer cette étude, à examiner la putréfaction des liquides retirés de l'économie, le sang, le lait, l'urine, le pus. Pour ce dernier, nous retrouverons, au chapitre LXVIII, ce qu'il y a d'intéressant à signaler à son sujet. Pour le lait et l'urine, nous en avons fait une étude suffisante. Le sang seul mérite de nous arrêter un instant, et nous rechercherons ensuite comment peut se corrompre un autre produit de l'organisme de la femelle, l'œuf, qui, formé dans les profondeurs du corps et sortant, chez les oiseaux, entouré d'une enveloppe imperméable, semble par suite devoir être imputrescible.

Putréfaction du sang. — Le sang dans le cadavre se putréfie très rapidement. Les globules laissent d'abord transsuder dans le sérum leur matière colorante ; de là elle passe, comme nous l'avons vu, dans les tissus environnants. Le stroma décoloré du globule se gonfle un peu, perd sa forme biconcave et ses contours nets, puis semble se dissoudre par places. Le sérum rougeâtre ne demeure pas clair, et, lors même qu'on n'y voit pas apparaître de productions organisées, il se remplit de petites granulations brun noirâtre dont les plus petites ressemblent aux granulations hématiques, et dont les plus grosses, examinées à un fort grossissement, ressemblent à des cristaux rhomboédriques d'hématine et d'hématoïdine. Dans certaines maladies, on y trouve des granulations noires, rondes ou hexagonales, que Valentin avait cru pouvoir caractériser sous le nom de corpuscules gangréneux, mais où, depuis les recherches de Scherer, de Lehmann, de Vogel, il faut voir une sorte de pigment cristallin dérivé de l'hématine, et qu'on retrouve en abon-

dance dans toutes les parties du corps, dans certaines maladies, comme la fièvre paludéenne pernicieuse, qu'accompagne une forte destruction de globules.

Dans le sang retiré du corps, la putréfaction suit une marche différente. Le coagulum formé dans les premières minutes se liquéfie peu à peu, sous l'influence de microbes qui le pénètrent dans toute sa masse, et qui en font une matière, semi-fluide, à couleur de chocolat. Le microscope y montre des lambeaux fibrineux, des globules gras, du pigment, des débris de globules, et enfin une infinité de ferments divers qui, si le sang est étendu d'eau, peuvent amener en quelques jours l'entière transformation de la masse. Seule la matière colorante résiste d'une façon presque indéfinie à la putréfaction.

BIBLIOGRAPHIE

Pasteur. — Examen du rôle attribué aux matières animales après la mort. *Comptes rendus*, 23 juin 1863.

Fourcroy. — Sur les différents états des cadavres dans les fouilles du cimetière des Innocents Paris, 1776.

Casper. — Praktisches Handbuch der gerichtl. Medizin. Berlin, 1864.

CHAPITRE LXV

PUTRÉFACTION DES ŒUFS

L'expérience journalière apprend que des œufs de poule, sains en apparence, et sans aucune lésion à la coque, finissent quelquefois par se putréfier en répandant l'odeur bien connue des *œufs pourris*. Elle montre aussi que tous ne sont pas dans le même cas, et qu'il y a toujours des œufs qui, même pendant les fortes chaleurs de l'été, peuvent se conserver pendant plusieurs jours, même pendant plusieurs semaines, sans subir autre chose qu'une dessiccation à peine apparente dans leur contenu, et qu'un léger changement dans le goût ou l'odeur, appréciable dans l'œuf mangé à la coque, disparaissant à l'air et dans une cuisson plus prolongée.

Dans les essais d'incubation naturelle ou artificielle des œufs fécondés, on a de même, depuis Réaumur, souvent observé que chez les œufs restés non éclos, l'embryon était tantôt pourri, et exhalait une odeur infecte, tantôt au contraire restait parfaitement inaltéré, quelquefois desséché, raccorni, momifié, mais avec sa texture intacte, et ne répandant aucune odeur.

Les expérience de M. Donné ont montré, d'un autre côté, que le nombre des œufs qui se pourrissent par un long séjour à l'étuve devient plus grand lorsqu'on les a soumis, sous leur coque intacte, à une agitation violente qui en mélange le blanc et le jaune, et fait du tout une masse homogène.

Comment expliquer ces bizarreries apparentes dans l'apparition de la putréfaction? Comment comprendre même que l'œuf, qui se forme et s'entoure de sa coque à une profondeur assez grande dans l'oviducte de la poule, qui arrive à l'extérieur muni d'une enveloppe imperméable, ne soit pas dans les mêmes conditions que le sang et l'urine que nous savons pouvoir se conserver indéfiniment lorsqu'on les prend tels qu'ils sont à l'intérieur du corps, et qu'on les protège contre l'invasion des germes? L'œuf, semble-t-il, ne devrait pas non plus se pourrir. S'il se pourrit, est-ce en vertu du même mécanisme que les autres matières organiques, par suite de l'apparition des ferments? si ce sont des ferments qui agissent, d'où en viennent les germes?

Telles sont les questions que ce que nous savons de la putréfaction nous amène tout naturellement à nous poser, et que nous allons essayer de résoudre. Nous allons voir que leur examen va non seulement confirmer la règle géné-

rale, mais encore va nous permettre de saisir une des voies de pénétration des germes à l'intérieur du corps des animaux. L'étude de la putréfaction des œufs est une sorte de suite à celle des urines ammoniacales, et elle est l'introduction naturelle des chapitres que nous aurons à consacrer à la putréfaction sur le mort et sur le vivant. Arrivés là, nous serons à la porte des maladies contagieuses. La franchir serait sortir du domaine de la chimie biologique. Nous nous contenterons d'indiquer, par quelques exemples, comment les grands phénomènes de contagion et d'hérédité peuvent se rattacher aux lois et aux faits consignés dans ce livre.

Caractères physiques de la putréfaction des œufs. — Cherchons d'abord comment la putréfaction se manifeste dans les œufs, et envisageons pour commencer l'œuf intact, qui n'a subi aucune agitation, et où le blanc et le jaune sont séparés et distincts. S'il ne doit pas pourrir, il perd tous les jours de l'eau par évaporation, de l'acide carbonique par respiration ou combustion lente ; sa chambre à air s'accroît, son albumine se dessèche un peu. Le jaune reste plus longtemps intact, puis finit par se rider légèrement ; l'odeur devient celle des œufs vieux, mais tous les éléments conservent à peu près leurs formes, leurs caractères et leurs propriétés.

Si l'œuf est destiné à se pourrir, le premier phénomène sensible est l'apparition, soit sur les membranes de l'œuf, soit même à l'intérieur de l'albumine, d'une coloration verdâtre, qui s'étend peu à peu et gagne bientôt tout le blanc. Celui-ci devient plus fluide, et les couches épaisses qui entourent le vitellus perdent leur caractère glaireux. La réaction devient alcaline, l'odeur putride commence à devenir appréciable. Bientôt les chalazes elles-mêmes se rompent, et le vitellus, plus léger que le blanc, quitte le milieu de l'œuf, remonte à sa partie la plus élevée, et se déplace dans tous les sens quand on l'agite ; quand on laisse l'œuf immobile pendant quelques jours, la dessiccation amène une adhérence entre le vitellus et le point de la membrane intérieure de l'œuf avec lequel il est en contact.

Un peu plus tard, la coloration verdâtre de l'albumine fait place à une teinte jaune, la réaction, primitivement alcaline, devient neutre ou très légèrement acide. En même temps, le jaune se ramollit. La membrane mince qui l'entoure se déchire au moindre effort, et ses éléments finissent par se mêler à ceux du blanc, qui devient trouble et sale. L'odeur est alors très accentuée, l'hydrogène sulfuré commence à devenir sensible dans les gaz qui se dégagent. Sous leur effort, il arrive quelquefois que la coque se brise en lançant dans tous les sens une matière spumeuse et puante.

Dans un œuf agité et brouillé, la putréfaction est généralement plus rapide. La masse devient un peu plus fluide, se colore légèrement en vert, passe par une réaction alcaline d'abord, neutre ou même légèrement acide ensuite; l'odeur putride s'exalte de plus en plus, comme dans le cas qui précède, et on arrive enfin à un dégagement de gaz comme celui que nous avons constaté.

La description de ces phénomènes semble indiquer qu'il se produit dans cet œuf deux actions de diverse nature. Au début, certainement les aérobies dominent. Les teintes qui se développent successivement sont analogues à celles que

nous rencontrerons en étudiant les bactéries chromogenes de la putréfaction des matières albuminoïdes. Mais peu à peu, on voit apparaître les anaérobies, vivant aux dépens des matériaux préparés dans la première période, et manifestant leur présence par le dégagement gazeux. Ce dégagement est surtout formé d'acide carbonique et d'hydrogène. Voici, pour le prouver, les résultats de l'analyse des gaz dégagés par un œuf abandonné sous une éprouvette pleine de mercure, et recueillis deux mois et deux mois et demi après le commencement de l'expérience.

	Après deux mois.		Après deux mois et demi.	
Hydrogène sulfuré	traces	»	traces	»
Acide carbonique	26,5	52	10,6	59
Hydrogène.	20,4	40	7,0	39
Azote	4,1	8	0,4	2
	51,0	100	18,0	100

Ces nombres semblent prouver que l'azote provenait de celui que renfermait l'air primitivement inclus dans l'œuf, et qui est éliminé peu à peu. Rien ne prouve au moins qu'il y ait formation d'azote pendant le phénomène.

L'acide carbonique et l'hydrogène sont les principaux éléments constituants des gaz de la putréfaction. L'hydrogène sulfuré n'est sans doute ici, comme à propos de la caséine, que le résultat de la réduction exercée par l'hydrogène sur les matériaux sulfurés de l'albumine. Sa proportion est toujours faible. Elle est sans doute pourtant supérieure à celle que révèle l'analyse ci-dessus, parce qu'en présence de l'humidité, le gaz se combine avec le mercure de l'éprouvette. Les pores de la coquille au travers desquels se fait le dégagement de gaz, s'entourent d'une auréole ou plutôt d'un pointillé fin d'une substance noire qui n'est autre que du sulfure de mercure.

Produits solides et liquides de la putréfaction. — L'œuf de poule représente un milieu extrêmement complexe, dont il est facile de prendre une idée, en consultant le tableau suivant de la composition d'un œuf de poule frais, donné par M. Schutzemberger.

Coquille ou enveloppe membraneuse.	10,69
Albumen ou blanc	60,42
Jaune ou vitellus	28,89
	100,0C

Blanc.

Eau	82,88	p. 100.
Matières solubles	13,316	—
Albumine.	13,274	—
Matières grasses (oléine, margarine et savons) .	traces.	—
Sucre	0,5	—
Matières minérales	0,64 à 0,68	—

Jaune.

Eau	48,550 p. 100.
Caséine	13,932 —
Membranes	0,459 —
Albumine soluble	2,841 —
Albumine précipitée par l'eau	0,892 —
Extrait éthéré (graisses neutres, graisses phosphorées, substance analogue à la cholestérine)	31,846 —
Matières minérales	1,521 —

Ce qu'il faut remarquer tout de suite dans ce tableau, c'est la prédominance de l'albumine dans le blanc, des matières grasses dans le jaune. On peut en conclure, *a priori*, avec ce que nous savons, que le blanc sera plus facilement attaqué que le jaune, lequel, d'ailleurs, est protégé par une membrane qui ne se rompt, comme nous l'avons vu, que lorsque le blanc est déjà envahi.

Le ramollissement du jaune, que nous avons constaté plus haut, pourra se produire en vertu des diastases que sécrètent les infusoires qui vivent dans le blanc, et précéder par conséquent la destruction de la membrane enveloppante du vitellus, comme nous l'avons vu aussi.

Cet ordre d'attaque rappelle celui qui se produit pendant l'organisation de l'embryon dans l'œuf resté sain. Le jeune poulet se forme, comme on sait, surtout aux dépens de l'albumen, et il a déjà des organes visibles quand la masse du jaune est encore à peine altérée. Par sa nature, elle est en effet surtout un aliment respiratoire, passif si on peut s'exprimer ainsi, et mis en jeu sous l'action d'une force extérieure.

L'albumine du blanc est aussi, par elle-même, un aliment impropre à une foule de microbes. Ceux qui s'y implantent le plus facilemement sont les bactéries aérobies, très énergiques producteurs de diastases, nous le savons, mais ayant besoin de l'oxygène de l'air, tout comme si l'albumine était assimilable à ces produits résiduels de fermentation qui ne peuvent plus alimenter une vie anaérobie. L'albumine emprunte évidemment son inaltérabilité relative à d'autres causes, mais il est curieux de constater cette résistance dans un pareil corps.

Quoi qu'il en soit, la marche des phénomènes est, comme nous l'avons vu, en rapport avec cette invasion primordiale, point nécessaire, mais très fréquente des ferments aérobies. Ici encore, comme à propos de la caséine, l'alcalinité domine dans les premiers produits de la fermentation. Plus tard, sous l'influence des anaérobies, la réaction devient neutre ou très légèrement acide.

Cette réaction acide n'est du reste peut-être pas due uniquement à des produits de la transformation des matériaux azotés. Il existe en effet dans les matériaux du blanc une substance sucrée, constituant environ 1/2 p. 100 de la masse, et dont il serait bien utile de préciser le rôle et le mode d'intervention. Nous verrons qu'elle disparaît, mais à quel moment, on ne le sait pas encore.

Il serait aussi bien intéressant de connaître par le menu les produits formés pendant la putréfaction. Ainsi qu'il est facile de le prévoir, cette étude n'est pas faite d'une façon complète. On n'a pu guère isoler que les substances qui sont cristallisables ou volatiles. Parmi ces dernières, M. Gayon a rencontré des

corps qui, sur les parties froides de la cornue, produisaient le phénomène des gouttes huileuses que nous avons décrit à la p. 234. Nous savons que ce phénomène n'est nullement caractéristique des substances alcooliques; beaucoup d'autres corps à tensions superficielles faibles le produisent. Mais nous verrons plus bas, que dans un cas, l'alcool a été isolé en nature par M. Béchamp, et il n'y a aucune raison de croire qu'il ne puisse se former quelquefois. Or on ne connaît encore aucune substance capable de fournir l'alcool par fermentation que les substances hydrocarbonées, et comme parmi ces substances, l'œuf paraît ne renfermer que du sucre, il demeure probable que c'est à lui qu'il faut attribuer la production d'alcool. L'acide butyrique, trouvé aussi par M. Gayon, peut provenir soit du sucre, soit de la matière azotée.

Parmi les autres produits volatils qui dérivent certainement de la destruction de la molécule albuminoïde, on trouve des sels d'ammoniaque et de triméthylamine, cette dernière plus abondante dans les œufs pourris à l'abri de l'air que dans les autres. On trouve aussi de la leucine, de la tyrosine. La cholestérine de l'œuf et les matières grasses ne semblent point prendre part au procès de putréfaction. Ces dernières doivent sans doute subir une saponification, mais peu profonde, puisque la réaction alcaline n'est pas durable et finit par revenir à la neutralité.

Agents de la putréfaction des œufs. — Les phénomènes généraux de la putréfaction dans les œufs ne diffèrent donc pas de ceux que nous avons vus jusqu'ici s'accomplir sous l'action des ferments. Il n'y a cela rien qui doive surprendre. M. Gayon a démontré en effet que la règle générale n'est pas ici en défaut, et que contrairement à l'opinion professée par divers savants, on trouve toujours dans un œuf qui se pourrit, des microbes analogues à ceux qu'on rencontre dans les matières animales en voie de décomposition. Ils sont quelquefois peu faciles à observer, leur degré de réfringence étant à peu près le même que celui du milieu albumineux où ils vivent, mais on les voit plus nettement en ajoutant un peu d'eau à la préparation.

On les rencontre dans l'albumine dès qu'elle prend la coloration verdâtre que nous avons signalée, sur les plages verdâtres à l'intérieur de la membrane externe de l'œuf, souvent même entre la coque et cette membrane. On en trouvera toujours en lavant avec une goutte d'eau le plancher de la chambre à air d'un œuf pourri, et en examinant cette goutte au microscope. On peut aussi exposer l'œuf dans le vide pour en faire suinter un peu de liquide albumineux; dans ce liquide additionné d'un peu d'eau, on trouvera toujours des êtres vivants.

Dans un cas seulement, M. Gayon n'a pas réussi à en trouver dans des œufs pourris, malgré un examen attentif. Dans ces œufs, qui paraissent avoir subi un mode de décomposition spécial, qui n'est pas la putréfaction, on rencontre des quantités anormales de leucine et de tyrosine. M. Gayon dit bien que la matière grasse semble aussi avoir disparu, mais comme il la dose en agitant la masse de l'œuf avec de l'éther, et qu'avec ces œufs, il se produit une émulsion persistante, tandis qu'avec les autres l'éther se sépare assez facilement, il est probable que l'émulsion empêche ici, comme avec le lait, la dissolution de la ma-

tière grasse et peut laisser croire facilement à sa disparition. En nous bornant à la présence constatée de la leucine et de la tyrosine, nous avons là les témoins ordinaires de l'intervention des infiniment petits, et je ne connais pas de cas où il y ait eu, dans un liquide soustrait à l'influence de l'organisme, augmentation de poids de ces deux substances sans qu'il y ait eu présence simultanée de ferments. Si M. Gayon n'en a pas vu, c'est peut-être qu'à l'époque où il a fait son travail l'attention ne s'était pas encore portée, comme elle l'a fait depuis, sur les micrococcus, les cellules punctiformes isolées ou par chaînes, qui paraissent avoir un rôle au moins aussi actif que les bactéries et les vibrions. Du moins, M. Gayon ne vise que ces dernières espèces, peut-être à cause de la difficulté qu'il y a de distinguer un micrococcus de la foule de granulations qui remplissent la goutte extraite d'un œuf. Nous verrons même, à propos du choléra des poules, que ces micrococcus vieux deviennent quelquefois très petits et presque indiscernables. On s'explique ainsi que leur présence ait échappé à M. Gayon.

Les bactéries et les vibrions dont il signale la présence semblent appartenir à des espèces très diverses, et il n'y a rien de général à dire sur elles que ceci, c'est que les bactéries sont surtout présentes à l'origine, quand il y a l'air, et les vibrions au moment des phénomènes de putréfaction. Il serait intéressant d'examiner de plus près les êtres qui interviennent. L'œuf, par sa constitution et à cause de la complexité de sa composition, est évidemment un mauvais milieu d'ensemencement, mais on pourrait prendre comme terrain de culture des solutions albumineuses. Peut-être trouverait-on à rapprocher les microbes de la putréfaction des œufs de ceux que nous avons vus transformer la caséine.

Fermentation acide. — Dans un seul des cas décrits par M. Gayon, il est permis de voir l'œuvre d'un être que nous connaissons déjà. C'est dans ce qu'il appelle la fermentation acide des œufs brouillés par l'agitation. L'odeur de la masse devient aigre comme celle du vieux levain de boulangerie. L'intérieur forme une masse homogène, de consistance butyreuse et de couleur jaune clair. La réaction au papier de tournesol est fortement acide. A la distillation, on recueille un peu d'acide et on observe les gouttelettes huileuses des liquides alcooliques. L'œuf contient alors des bâtonnets immobiles, à contours pâles, à teinte homogène, dont la largeur varie entre $0^{\mu},5$ et $0^{\mu},7$.

Une altération sans doute analogue a été observée par M. Béchamp, en 1868, dans un œuf d'autruche, et grâce à la masse dont il disposait, M. Béchamp a pu montrer que le principal produit alcoolique était l'alcool ordinaire, et le principal acide volatil de l'acide acétique.

Tous ces faits sont bien ceux qui devraient se produire, si l'être qui est intervenu est l'*actinobacter polymorphus* étudié au chapitre LVIII; odeur de vieux levain, acidité de la masse, nature et aspect du microbe, nature des produits, tout concorde à faire penser que cette fermentation acide, distincte de la putréfaction, est une fermentation alcoolique et acétique du sucre de l'œuf, étendue ensuite au reste de la masse, grâce à la faculté que nous connaissons à l'*actinobacter* de vivre aux dépens de matériaux très divers.

Présence de moisissures. — Il est enfin des cas où l'altération survenant dans les œufs est le fait de moisissures, qu'on trouve quelquefois adhérentes à la coquille, et qui peuvent dès lors provenir d'un tube mycélien, ayant traversé de l'extérieur un des pores de la coquille par un mécanisme analogue à celui qui permet aux racines des arbres de s'enfoncer dans le sol. Mais il est aussi des cas où ces moisissures forment des flocons flottants à l'intérieur du blanc, sans aucune apparence de contact avec l'extérieur. Elles semblent appartenir à des espèces diverses. M. Gayon a très souvent rencontré des Torulas et un Aspergillus. D'autres observateurs, depuis Réaumur, ont rencontré d'autres formes.

La nature de l'altération ne varie pas en apparence beaucoup avec la nature du cryptogame. Le mycélium, en se développant, fige pour ainsi dire l'albumine sur son passage, et s'entoure d'une gelée incolore, mobile, mais ne coulant pas, comme serait de la gélatine. Arrivé à la membrane extérieure de l'œuf, le mycélium se ramifie à sa surface; il gélatinise à son contact une couche de deux à trois millimètres d'épaisseur. La fructification se fait en général dans la chambre à air. L'odeur n'est jamais putride et devient quelquefois légèrement aromatique. On reconnaît là des phénomènes analogues à ceux que nous avons constatés à propos du lait.

Origine des ferments de l'œuf altéré. — Toutes ces constatations nous amènent maintenant à nous poser une dernière question. Puisque la putréfaction des œufs est ainsi toujours produite par des êtres vivants, par quelles voies ces êtres pénètrent-ils dans une enceinte en apparence aussi bien close que l'œuf?

On pourrait croire au premier abord que c'est par la surface. La coque est, en effet, percée de pores nombreux qui sont de vrais tunnels pour des êtres de la grosseur des bactéries ou des vibrions, Mais il y a au-dessous une membrane continue, qui dans les cas ordinaires est un obstacle suffisant à la pénétration. Ce qui le prouve, c'est que des œufs abandonnés dans une eau fourmillant d'organismes ne pourrissent pas plus facilement ni en plus grand nombre que dans de l'eau pure.

Il y a, d'ailleurs, une autre raison qui conduit à repousser cette hypothèse de la pénétration par l'extérieur, c'est que dans le cas le plus général, l'œuf est conservé à l'air, que sa surface reste sèche, et qu'il n'y a, dès lors, aucune cause de pénétration de microbe de l'extérieur à l'intérieur.

Il faut donc chercher ailleurs. On sait que daus la poule, le vitellus recueilli par le pavillon, à la suite de sa chute de l'ovaire, s'engage dans un canal long de 50 centimètres en moyenne, dont il parcourt rapidement les 6 ou 7 premiers centimètres. Il entre ensuite dans une région où il se recouvre d'une série de couches d'albumine, sécrétées par des cryptes nombreux, et de densités sans cesse décroissantes. Son mouvement en tire-bouchon tord à ses deux extrémités les deux *chalazes* destinées à le tenir suspendu dans un milieu plus dense. Il met deux ou trois heures à parcourir cette portion albuminipare du canal vecteur, longue de 25 centimètres environ.

Au delà, dans une longueur de dix centimètres, l'œuf, qui a déjà sa forme

ovoïde, se recouvre d'une couche fibreuse qui forme la membrane de la coque. Au bout de deux ou trois nouvelles heures, il arrive dans la région qui doit lui fournir la coquille. Cette région, qui a juste la longueur de l'œuf, se distingue par la forme des plis de la muqueuse qui sont lancéolés, saillants et très pressés. Cinq ou six heures suffisent à recouvrir l'œuf d'une enveloppe assez résistante. Néanmoins, ce n'est qu'au bout de vingt-quatre heures que l'œuf est poussé dans le cloaque et expulsé ensuite.

Ce cloaque est naturellement recouvert à sa surface d'une infinité d'êtres divers, contre lesquels l'œuf est suffisamment protégé. La protection est aussi suffisante dans les quinze centimètres du canal vecteur que l'œuf parcourt muni de sa membrane; mais il est possible que les germes des êtres microscopiques pénètrent plus profondément dans ce canal, qui est largement ouvert dans le cloaque chez les poules pondeuses, et que les spermatozoïdes du mâle paraissent remonter avec beaucoup de facilité. Si on admet cette pénétration des germes des microbes, tous les faits que nous venons d'exposer n'ont plus rien de surprenant et rentrent dans la règle générale.

Or, c'est précisément ce que démontrent les observations de M. Gayon. En examinant au microscope le contenu des liquides qui tapissent le canal vecteur à des distances variables du cloaque, il a trouvé, à une profondeur de 10 centimètres, des êtres en tout semblables à ceux qu'on rencontre dans les œufs pourris, bactéries, vibrions et filaments plus ou moins allongés. Il a même trouvé à cette profondeur des objets plus volumineux, par exemple une spore reconnaissable de *puccinia graminis*, identique à celles qu'on trouvait dans le grain donné à ce moment aux poules.

Nul doute que les germes des êtres microscopiques ne puissent pénétrer encore plus loin, mais en trop petite quantité pour être vus. Quand on en rencontre de reconnaissables à 10 centimètres, il n'y a aucune raison de ne pas admettre qu'ils peuvent remonter plus haut. Il est, d'ailleurs, impossible de songer à un autre mécanisme pour expliquerla présence, à l'intérieur des œufs, des corps qu'on y rencontre quelquefois. M. Chatin y a trouvé un ver qui n'était autre que l'*ascaris* de la poule, venant du tube intestinal et ayant remonté le long du canal vecteur. On pourrait dire que la pénétration de ce ver mobile n'est pas étonnante, mais on a trouvé dans des œufs, des plantes, des pierres, des graines, des insectes. M. Reiset y a rencontré une patte de hanneton entourée de blanc, une certaine année où les hannetons étaient très nombreux.

Aucun doute par conséquent sur la possibilité de la pénétration des germes. Quant au mécanisme mis en jeu, il est peu connu; mais on a le droit d'admettre qu'il est en relation avec les faits suivants. Pendant l'accouplement, l'utérus de la poule s'évagine en partie et sort du cloaque; c'est là que le coq applique son tubercule et dépose la liqueur séminale, après quoi l'utérus rentre et reprend sa position naturelle. Dans cette opération, ses parois ont touché le cloaque, elles ont été en contact avec le tubercule et le cloaque du mâle et y ont sûrement rencontré des microbes qu'elles ramènent dans l'oviducte en même temps que les spermatozoïdes. Ceux-ci remontent jusque dans l'ovaire. S'ils ont en eux-mêmes les causes de leur mouvement, ils ne peuvent l'effectuer sans entraîner avec eux un peu de liquide adhérent à leur surface et renfermant des

germes. Si leur pénétration est l'effet d'une cause extérieure à eux, elle doit agir aussi sur les germes. De ceux-ci, tous ceux qui peuvent vivre dans l'albumine se développent dans l'œuf mis à l'étuve avec la lenteur qui convient à la nature défectueuse du milieu nutritif. Il n'y a, comme on voit, rien de mystérieux dans le phénomène, et la putréfaction des œufs rentre dans la règle commune. Nous y voyons, en outre, que les microbes peuvent pénétrer à une certaine profondeur dans un organisme sain. Nous aurons bientôt à poursuivre cette notion sur un autre terrain.

BIBLIOGRAPHIE

Réaumur. — Art de faire éclore et d'élever en toutes saisons des oiseaux domestiques, 1751.

Donné. — Expériences sur l'altération des œufs. *Comptes rendus*, t. LVII, 1863.

— Recherches sur la putréfaction spontanée des œufs couvés, *Comptes rendus*, t. LVIII, 1864.

Pasteur. — *Comptes rendus*, t. LXIII, 1866.

Donné. — Note sur la putréfaction des œufs et les produits organisés qui en résultent. *Comptes rendus*, t. LXV, 1867.

Béchamp. — *Comptes rendus*, t. LXXV, XXLVL, LVXVII.

Gayon. — Recherches sur les altérations spontanées des œufs, Thèse. *Ann. de l'Éc. norm. sup.*, 1875.

CHAPITRE LXVI

PRODUITS GAZEUX DE LA PUTRÉFACTION

L'étude de la putréfaction, que nous avons abordée, serait très facile et très courte si on était arrivé à séparer les unes des autres les espèces qui peuvent y prendre part, et à connaître exactement, pour chacune d'elles, la matière albuminoïde ou azotée à laquelle elle s'adresse de préférence, les transformations qu'elle y amène, le point auquel elle s'arrête. Il serait alors possible de faire pour une matière albuminoïde complexe, l'albumine par exemple ou la fibrine, ce que nous avons fait pour le sucre, et d'examiner par le détail les voies diverses et les stades variables par laquelle elle passe pour arriver à se résoudre à l'état d'eau, d'ammoniaque, et d'acide carbonique.

Il y a, à résoudre ce problème, deux ordres de difficultés. La première est de séparer les espèces actives. Il ne faut pour cela que du soin et de la patience, et ce n'est pas de ce côté que sont les plus grands obstacles. Nous avons tiré de cette étude des notions importantes, dans le cas de la caséine, mais nous avons été arrêtés par une autre difficulté, celle d'interpréter certains de nos résultats, à cause de l'ignorance où nous sommes à la fois de la constitution de la molécule albuminoïde véritable, et de celles de ses dérivés azotés, peptones, matières extractives, etc., qui remplissent l'intervalle entre la matière initiale et les produits cristallins, tels que la leucine et la tyrosine.

La solution complète du problème est donc théoriquement et pratiquement subordonnée à la découverte de la constitution de la matière albuminoïde, découverte qu'on peut essayer de faire par des moyens bien différents, soit par des essais d'ordre purement chimique, tels que l'action de la chaleur, des acides, des alcalis, des dissolutions salines, soit en mettant en jeu les divers ferments. Dans ce dernier cas, le problème reste tout entier sur le terrain biologique. Dans le premier, il réclame les secours de la chimie.

Si distinctes que soient en apparence ces diverses méthodes d'investigation, il faut remarquer tout de suite qu'elles ont des points ou au moins des résultats communs. On peut réaliser par des moyens purement chimiques certaines des transformations que produisent les ferments. M. d'Arsonval a annoncé qu'on pouvait obtenir de l'alcool par l'action des alcalis sur le sucre. Il est vrai qu'il n'est pas revenu depuis, à ma connaissance, sur cette affirmation qui est trop

importante pour être acceptée sans preuves, mais nous avons une certitude plus grande au sujet de la transformation du sucre en acide lactique. Hoppe Seyler a obtenu du lactate de potasse en traitant le glucose par la potasse. M. Schutzemberger, a retiré du glucose 60 p. 100 d'acide lactique, en le chauffant quarante-huit heures à 150-160° avec trois fois son poids de baryte caustique.

La décomposition de ce même sucre par la chaleur fournit d'un autre côté divers acides de la série grasse, son hydratation au moyen de l'amalgame de sodium en fait de la mannite, etc. Bref, il paraît possible d'obtenir par des moyens purement chimiques, aux dépens du sucre, tous les produits qu'il donne sous l'action des ferments. Ceux qui proviennent des ferments produisant un dégagement d'acide carbonique pur se formeront plus facilement sous l'action des substances avides d'acide carbonique, comme les alcalis. De même, ceux qui s'accompagnent en même temps d'un dégagement d'hydrogène prendront de préférence naissance dans des réactions oxydantes ou déshydrogénantes. Je ne parle pas ici des actions d'hydratation, qui dans la nature vivante sont produites par les diastases et, dans la chimie organique, sont surtout le fait, soit de la chaleur, soit des acides, soit des alcalis.

Ces actions diverses, bien constatées à propos des sucres et des matières hydrocarbonées, doivent se retrouver et se retrouvent en effet dans l'histoire des matières albuminoïdes. Il n'est presque aucune des substances que nous allons voir produites par la putréfaction, qui ne puisse résulter de l'action d'agents chimiques convenables, et agissant dans le même sens que les espèces microscopiques, les uns pour produire des hydratations, les autres pour provoquer la formation d'acide carbonique ou d'hydrogène.

Nous laissons pour le moment de côté, la question de savoir si les produits divers des ferments ou des agents chimiques préexistaient dans la molécule complexe d'où ils dérivent, si les actions auxquelles on soumet cette molécule la disloquent d'une façon irrégulière, ou bien y mettent seulement en évidence des groupements préexistants. En se rapportant à l'analogie que nous avons signalée avec le sucre, comme il est manifestement impossible d'admettre que les groupements alcool, acide lactique, acide butyrique, acétique, mannite, etc. existent à la fois dans la molécule du sucre, nous sommes amenés à douter que les corps divers qu'on obtient par l'action des ferments ou des réactifs chimiques sur la molécule albuminoïde préexistent dans cette molécule et puissent servir à en établir la structure. Les influences mises en jeu sont en général trop puissantes pour tenir grand compte de l'arrangement moléculaire. Sans doute cet arrangement se traduit toujours par quelque point, et d'autant mieux que la dislocation qu'il a subie était plus faible, mais le problème de le démêler dans une destruction un peu profonde est toujonrs incertain et illusoire, et comme nous l'avons déjà fait remarquer, il est sans doute plus facile lorsqu'on l'aborde du côté de l'action des ferments, que du côté de l'emploi des agents chimiques; car avec les ferments on est plus maître de graduer l'action, soit en faisant varier les espèces, soit en changeant les conditions d'aération et de température.

Au point où en est la science, la seule chose que nous puissions faire est ceci: Etudier, avec le plus de détail et de précision possible, les produits divers dont

on a constaté la formation dans les phénomènes de putréfaction, sans nous inquiéter de leur origine et du rang qu'ils tiennent, soit dans la molécule d'où ils dérivent, soit dans la vie physiologique des êtres qui les ont fournis. Ce sera une revue de l'état actuel de nos connaissances sur ce sujet. Nous allons la faire en commençant par les produits les plus simples et par conséquent les mieux connus, et en remontant jusqu'aux plus complexes. Comme l'histoire de beaucoup d'entre eux est toute récente, comme, pour à peu près tous, les moyens de les découvrir et de les doser dans un mélange aussi complexe qu'une masse putréfiée font nécessairement partie intégrante d'une étude sur la putréfaction, nous allons indiquer, pour chacun d'eux, les circonstances dans lesquels il se forme, sa nature chimique, et, au besoin, les moyens de le reconnaître. Nous commencerons par les produits gazeux.

Produits gazeux de la putréfaction. — Nous rangerons parmi ces produits l'acide carbonique, l'hydrogène, l'hydrogène sulfuré, divers hydrogènes carbonés et de l'azote.

Les trois premières sont les plus fréquents. Ce que nous avons appris à propos des ferments de la caséine nous prouve que certains de ces ferments, lorsqu'ils ne vivent dans le lait qu'aux dépens de la caséine, donnent avec elle des dégagements gazeux où entrent de l'acide carbonique et de l'hydrogène en proportions constantes et régulières. Une partie de l'hydrogène seulement se transforme, aux débuts de la fermentation, et par un mécanisme que nous avons essayé de saisir, en hydrogène sulfuré.

Il est probable qu'il en est de même avec les autres matières albuminoïdes, et que si complexes qu'elles soient, elles donneraient, si on les soumettait à l'action de ferments purs, des dégagements gazeux de composition assez constante.

Mais il faut signaler en même temps la possibilité théorique, prouvée par ce que nous avons vu au chapitre XLVIII sur l'actinobacter, et par d'autres faits disséminés dans le courant de ce livre, de l'existence de ferments qui, avec le même aliment, donnent des produits gazeux variables avec le degré d'aération, et le degré de destruction qu'ils amènent dans la molécule de la matière fermentescible.

Comme jusqu'ici les procès de putréfaction dont on a étudié les produits se sont accomplis sans qu'on se soit mis en peine de purifier, ou même quelquefois d'étudier les espèces actives, on comprend que la proportion des éléments constituants des dégagements gazeux analysés, et même la nature de ces éléments, ait été variable d'un observateur à l'autre, et même d'un moment de l'opération à un autre moment. Tous les résultats obtenus dans cette voie ont donc un caractère contingent. Il en est pourtant quelques-uns qui sont utiles à signaler.

Dans des recherches sur la putréfaction accomplie à l'abri de l'air, M. Jeanneret a étudié les gaz qui se dégageaient avec la gélatine et l'albumine.

L'ensemencement se faisait en introduisant dans la liqueur un fragment de pancréas, qui agissait sans doute par les germes que nous savons tapisser le conduit de la glande, ou ceux qu'il ramassait pendant la manipulation de l'extraction ou de l'ensemencement.

Gaz de la putréfaction de gélatine.

	CO^2	Az
Le 2e jour	95,12 p. 100	4,88 p. 100
3e —	97,60 —	2,40 —
4e —	98,05 —	1,91 —
5e —	98,33 —	1,67 —
7e —	99,88 —	1,20 —
8e —	100.00 —	0,00 —

Le gaz non absorbable par la potasse ne renfermait pas d'hydrogène. C'était sans doute de l'azote provenant de l'air, que les précautions prises n'avaient pas exclu complètement.

Gaz de la putréfaction d'albumine.

	CO^2	Az + H
Le 2e jour	73,53 p. 100	26,47 p. 100
3e —	80,88 —	19,12 —
4e —	84,09 —	15,91 —
6e —	85,36 —	14,64 —
7e —	97,30 —	2,70 —
8e —	94,87 —	5,13 —
9e —	93,48 —	6,52 —
11e —	94,12 —	5,88 —
12e —	96,08 —	3,92 —
13e —	97,50 —	2,50 —

Ici le gaz non absorbable par la potasse contenait de l'hydrogène dont la proportion a varié brusquement du sixième au septième jour, sans doute par suite de la substitution d'un ferment à un autre.

Voici, comme exemple des différences qui peuvent exister entre deux opérations en apparences identiques, les résultats trouvés par le même observateur à huit jours de distance.

Gaz de la putréfaction de fibrine.

	CO^2	Az + H
Le 1er jour	31,17 p. 100	68,83 p. 100
2e —	61,19 —	38,81 —
3e —	86,77 —	13,23 —
5e —	68,93 —	31,07 —
6e —	89,89 —	10,12 —
8e —	92,22 —	7,78 —
9e et 10e jours	92,50 —	7,50 —
11e et 12e —	97,77 —	4,23 —
13e et 14e —	97,20 —	2,80 —

Les variations dans le volume relatif des gaz non absorbables sont assez grandes. Cependant, si l'on envisage en général les résultats de ces trois séries d'analyses, on voit que l'acide carbonique a été en augmentant constamment du commencement à la fin de l'opération.

Dans leurs recherches sur la putréfaction, MM. Gautier et Etard sont arrivés

au même résultat. Ils ont abandonné aux chaleurs de l'été, dans des touries de verre, de grandes quantités de chair de cheval, de bœuf, de poisson, et ils ont analysé, à diverses époques, les gaz produits.

Les masses musculaires soumises à ce traitement laissent d'abord suinter, sans se désagréger, un liquide clair, sirupeux, coagulant par la chaleur, résultant sans doute d'une sorte de continuation de la vie dans les cellules, analogue à celle dont nous avons parlé au chapitre XXXV.

Puis la fermentation s'établit, et le dégagement gazeux commence. Les gaz ont la composition suivante.

	CO^2	Az	H
Le 7e jour	65	35	
9e —	63	37	
11e —	52	48	
12e —	72	28	
13e —	67	7,5	17,5
16e —	84	3,7	12,3
26e —	88,5	11,5	trace

On voit que l'acide carbonique va en augmentant peu à peu, et l'ensemble des deux autres gaz en diminuant.

Une putréfaction de chair de *scomber scombrus* a donné d'autres proportions.

	CO^2	H	Az	HS	PhH^3
Le 3e —	95	5		trace	trace
4e —	95	5		—	—
5e —	96	4		—	—
9e —	97	2	0,7	0,3	trace
16e —	99,5	trace	trace	—	—

Ici l'acide carbonique arrive à être à peu près pur. Les causes de ces changements sont moins sans doute dans la nature des substances fermentescibles, que dans la nature des ferments entrés en jeu. Cependant, avec la viande de mammifère, MM. Gautier et Etard semblent avoir trouvé de l'acide lactique et de l'acide butyrique libre en plus grande abondance que dans la viande de poisson, et la dose plus considérable d'hydrogène dégagé à l'origine pourrait bien être en relation avec ce fait, mais rien ne le démontre.

Azote. — Le dégagement d'azote que nous venons de constater est tellement faible qu'on pourrait l'attribuer, comme dans les expériences de M. Jeanneret, à l'air des bonbonnes ou à celui qui est en solution dans les liquides de la viande. Mais la production de ce gaz à l'état libre a été vérifiée avec soin dans une expérience faite à blanc avec 1 kilogramme de viande, placée dans un bocal de verre avec de l'eau entièrement privée d'air. Les gaz dégagés renfermaient, pour 100 volumes :

	CO^2	H	Az
Le 4e jour	36,2	62,2	1,6
6e —	45,7	47,8	6,5

Dietzell avait du reste constaté antérieurement des dégagements d'azote libre dans les proportions de 5 à 17 p. 100 du poids de la substance putrescible. Il avait opéré sur des mélanges de sang ou d'urine de vache avec du gypse, de la terre sèche ou de la craie. Comme il se forme en même temps de l'acide nitreux, de la leucine et des amines primaires, il avait été conduit à leur attribuer le dégagement. La leucine donne en effet avec l'acide nitreux de l'acide leucique, de l'eau et un équivalent d'azote. Il y a aussi de l'azote formé par l'action de l'acide nitreux sur les amines primaires et aussi sur l'ammoniaque Les amines peuvent enfin aider à la formation de ce gaz en chassant l'ammoniaque des sels ammoniacaux. Mais les mélanges de M. Dietzell semblent avoir été exceptionnellement riches en nitrates, et, dans les cas ordinaires, l'azote, lorsqu'il s'en forme, a sans doute une origine plus directe dans la destruction de la molécule de la matière albuminoïde.

Hydrogène sulfuré. — Ce gaz est un des produits les plus remarquables de la putréfaction des matières animales. Nous savons que dans quelques cas il peut provenir de l'action exercée sur le soufre et les matières sulfurées par l'hydrogène naissant. D'autres fois, il doit sans doute provenir de la destruction d'un composé sulfuré, s'il est vrai, comme on le professe généralement, mais sans en avoir donné, à mon avis, de preuves bien décisives, que le soufre fasse partie intégrante de la molécule de la matière albuminoïde.

Il est souvent présent en quantités si faibles que l'odeur ne décèle pas sa présence. D'un autre côté, il arrive souvent que, lorsqu'il est en dissolution dans un liquide organique, il ne peut être décelé par des sels de plomb, qui forment un sulfure soluble dans le liquide et ne produisent qu'un noircissement de la liqueur, souvent peu visible. Le nitroprussiate de soude en dissolution à 1 p. 100 donne alors fréquemment dans ce liquide désaéré une coloration rouge pourpre très nette et très persistante. C'est un procédé plus sensible que l'emploi du papier au sous-acétate de plomb.

Hydrogènes carbonés. — MM. Gautier et Étard n'ont jamais trouvé, dans leurs putréfactions, trace d'hydrogènes carbonés. Cela ne prouve pas qu'il ne puisse s'en produire. Kunckel en a trouvé en faisant fermenter de la fibrine avec le tissu du pancréas, et Gréhant est arrivé aux mêmes résultats avec la fibrine du sang.

Nous avons dit, au chapitre LXIV, que dans les cadavres abandonnés à la putréfaction il se produisait à un certain moment une distension du scrotum et des parois de l'abdomen, et que les gaz qui s'en dégagent, quand on fait une piqûre, sifflent à la sortie et sont quelquefois inflammables. MM. Brouardel et Boutmy ont fait l'analyse de ces gaz, retirés du scrotum ou de l'abdomen d'un noyé qui commençait à entrer en putréfaction. Ces gaz brûlaient avec une flamme pâle, et ont présenté la composition suivante :

	Scrotum, commencement de la putréfaction.	Abdomen, à une époque un peu plus avancée.
	—	—
Hydrogène	12,2	11,5
Hydrogène sulfuré	1,2	1,4
— carboné	13,4	6,0
Oxygène	7,8	traces
Acide carbonique	33,5	64,7
Azote	31,9	16,4
	100,0	100,0

L'azote et l'oxygène de la première analyse sont à peu près dans les mêmes proportions que dans l'air, et leur présence est le résultat, ou bien d'une erreur expérimentale, ou bien d'une pénétration de l'air par diffusion au travers des parois distendues du scrotum. Mais l'important est la présence d'hydrogène carboné dans les deux cas.

Il faut remarquer pourtant que la présence de ce gaz est ici moins probante que dans les expériences de Kunkel et de M. Gréhant, visées plus haut. Les premiers gaz de la putréfaction dans les cadavres proviennent surtout des matières déposées dans le canal intestinal, parmi lesquelles il y a toujours des hydrates de carbone. Or Popoff a montré que l'hydrogène protocarboné se produisait toujours dans la fermentation des matières cellulosiques, qu'il pouvait même s'en dégager, lorsqu'on les ensemençait avec des eaux d'égout, autant de ce gaz que d'acide carbonique. Par contre, comme MM. Gautier et Etard, il n'a jamais pu en obtenir par putréfaction des matières albuminoïdes.

Comment expliquer ces divergences! Il y a peut-être là une question de différence dans la nature des ferments mis en jeu dans ces cas divers. Peut-être aussi faut-il accepter cette distinction entre les produits de fermentation des substances albuminoïdes et des hydrates de carbone. Mais comme nous verrons qu'on ne l'a pas retrouvée ailleurs, et que les autres produits hydrocarbonés de la putréfaction des matières albuminoïdes sont identiques à ceux des substances ternaires, il est prudent de ne pas l'accepter sans preuves nouvelles sur le terrain mal déblayé où nous venons de la rencontrer.

Hydrogènes phosphorés. — Enfin, parmi les produits volatils qui contribuent à donner aux gaz putrides leur odeur, il faut citer les hydrogènes phosphorés et l'ammoniaque.

Sur les hydrogènes phosphorés, on ne sait à peu près rien. On connaît seulement le dégagement dans les cimetières, au-dessus des fosses d'animaux dans les champs, de gaz inflammables dans lesquels existent des hydrogènes phosphorés divers. L'odeur particulière des gaz putrides est faite surtout de ces phosphures d'hydrogène; mais on ne sait quels ils sont, ni même s'ils appartiennent aux types connus.

M. J. Lefort a émis l'idée qu'il devait se former dans la putréfaction des phosphures de soufre, mais n'a appuyé cette opinion d'aucune preuve décisive.

Ammoniaque. — L'influence de l'ammoniaque sur l'odeur des matières

putrides est d'autant plus sensible, qu'en général cette base est accompagnée de diverses ammoniaques composées, dont nous avons déjà noté la présence à propos de la putréfaction des œufs.

De ces ammoniaques composées, les seules qu'on ait encore rencontrées dans les matières organiques putréfiées, sont l'éthylamine et la propylamine ou triméthylamine, à laquelle la saumure de harengs doit l'odeur qu'elle présente.

L'ammoniaque, à l'état de carbonate ou de combinaison avec un acide gras, est au contraire présente dans tous les cas de putréfaction un peu avancée. Nous savons, par ce que nous avons vu à propos de la caséine, qu'elle est surtout abondante avec les êtres aérobies. Peut-être est-elle dans quelques cas le résultat de la transformation de l'urée, que de nombreuses espèces de microbes produisent sans l'hydrater, mais qui, dans l'infinie variété des êtres que présentent les putréfactions ordinaires, peut bien en rencontrer quelques-uns sécrétant la diastase qui agit sur elle.

Il a pourtant, quand on veut s'assurer de la présence de l'ammoniaque, quelques précautions à prendre. Il ne saurait suffire de constater le bleuissement du papier de tournesol rougi. Il y a dans un liquide putréfié, comme nous le verrons, en dehors des bases volatiles, des corps en grand nombre, capables de faire virer la couleur du tournesol.

Il vaut mieux se servir du réactif de Nessler, qu'on obtient en ajoutant à l'ébullition, à une solution à 5 p. 100 d'iodure de potassium, autant d'iodure de mercure rouge qu'elle peut en dissoudre. On filtre, et on ajoute, après refroidissement, au liquide limpide et légèrement coloré en jaune, le tiers de son volume d'une dissolution de potasse concentrée, car ce réactif n'agit que dans une liqueur alcaline. Il donne alors, avec les plus légères traces d'ammoniaque, une coloration orange, et avec de plus grandes quantités, un précipité brun rouge. Malheureusement, il précipite aussi certains alcaloïdes fixes que nous rencontrerons bientôt. L'acide phosphomolybdique donne de bons résultats, si l'on prend soin de le faire agir dans une liqueur fortement acide.

On rencontre aussi souvent mentionné, dans les travaux sur la matière, le réactif de Wildenstein qui est une teinture d'hématoxyline jaune. On l'obtient en débitant en petites bûchettes la portion jaune d'un bon morceau de bois de Campêche. On empile ces petite bûchettes dans un vase qu'on puisse bien fermer, et on les laisse vingt-quatre à quarante-huit heures en contact avec de l'alcool absolu. On obtient ainsi une liqueur, jaune en faible épaisseur, jaune brun sous une épaisseur plus grande. Ajoutée dans un liquide où il y a de l'ammoniaque, elle y produit une coloration rouge vineux intense, qui se fonce à l'air et aboutit à une coloration brun foncé. Wildenstein dit avoir reconnu par ce moyen, la présence de $\frac{1}{1,000,000}$ d'ammoniaque dans une liqueur. Mais la réaction n'est pas sûre. On obtient des colorations violettes, rouges, bleues et brunes avec d'autres substances que l'ammoniaque, avec les alcalis, les terres alcalines, les sels de fer, de zinc, de cuivre. Le réactif de Nessler vaut beaucoup mieux.

Réactif de Helmholtz. — A cette question de réactifs des produits de la

putréfaction, vient naturellement se rattacher l'étude de celui que Helmholtz a proposé pour reconnaître une putréfaction commençante, longtemps avant que les autres ne donnent quelque indication, longtemps même avant que l'odeur avertisse du phénomène qui s'accomplit. C'est une dissolution de glutine colorée en bleu par de la teinture de tournesol, qui se décolore dans un liquide en voie de décomposition, et revient au bleu si ce liquide est exposé à l'air en grande surface ou agité au contact de l'air. On voit qu'il y a là une question de désoxydation par les ferments aérobies ou anaérobies, dont la présence précède toujours le commencement de la putréfaction. Le carmin d'indigo, dont nous nous sommes servis au chapitre VIII, se comporte de la même manière, mais possède moins de sensibilité. Le réactif de Helmholtz peut rendre des services. Il suffit de tremper quelques instants, dans un liquide qui commence à se troubler, une bande de papier imbibé de la teinture bleue de glutine, pour la voir se décolorer, et cette réaction est dans un rapport trop étroit avec les idées que nous avons développées sur la cause de la putréfaction, pour que nous ayons cru devoir la passer sous silence.

BIBLIOGRAPHIE

J. Jeanneret. — *Dissertation inaugurale.* Berne, mars 1877.

A. Gautier et A. Étard. — Sur le mécanisme de la fermentation putride. *Comptes rendus*, 24 avril et 12 juin 1882.

B.-E. Dietzell. — Formation d'azote libre pendant la putréfaction. *Berichte der deutsch. Chem. Gesell.*, t. XV, p. 551.

Kunkel. — *Verhandl. der phys. med. Gesell.* Wurtzbourg, n. F, p. 134.

Gréhant. — *Gazette médicale*, 1874.

Brouardel et Boutmy. — Note sur les réactions des ptomaïnes et quelques-unes des conditions de leur formation. *Bull. de l'Ac. de méd.*, 14 juin 1881.

L. Popoff. — Uber Sumpfgas gahrung. *Pflügers Archiv. f. physiol.*, t. X, p. 113-117.

J. Lefont. — Sur le rôle du phosphore et des phosphates dans la fermentation. *Bull. de l'Ac. de médecine*, 1874, p. 141.

Helmholtz. — Das Wesen der Gährung uud Faulniss. *Joh. Mull. Archiv. der anat. und physiol.*, 1843, p. 357.

CHAPITRE LXVII

PRODUITS VOLATILS DE LA PUTRÉFACTION

Nous étudierons, dans ce chapitre, les produits qu'on obtient en soumettant à la distillation, en présence d'acides, d'alcalis, ou en les laissant à l'état neutre, les liquides de putréfaction.

Quand on veut séparer les unes des autres ces diverses substances volatiles, sans avoir à se préoccuper des modifications que l'opération peut apporter à la nature des substances fixes, le mieux est de distiller d'abord le liquide putride avec un peu de baryte caustique, qui en élimine à l'ébullition les alcalis volatils, ammoniaque et ammoniaques composées. Nous n'insisterons pas davantage sur l'étude de ces produits, que nous avons déjà rencontrés au chapitre précédent, et sur la séparation et le dosage desquels on trouve des renseignements suffisants dans tous les ouvrages de chimie analytique.

Le liquide alcalinisé par la baryte est ensuite additionné d'acide sulfurique en quantité suffisante pour précipiter la baryte, et mettre en liberté tous les acides volatils qui peuvent y exister. On le soumet alors à la distillation tant que l'on obtient des produits acides, ce qui, comme nous le savons, est quelquefois long lorsqu'il s'agit d'acide acétique, et exige qu'on rajoute à diverses reprises du liquide dans la cornue, quand on veut bien épuiser ses résidus.

Le liquide, débarrassé ainsi d'acides volatils, est traité à chaud par du carbonate de baryte jusqu'à ce qu'il devienne neutre, et filtré. Il peut encore servir à la recherche des substances qui comme la leucine, la tyrosine, le glycocolle, ont été peu ou pas affectées par cette double ébullition, en présence d'une base et d'un acide. Mais quant aux matières plus complexes, aux peptones ou aux diverses matières albuminoïdes que peut renfermer le liquide, on ne peut plus les considérer, après cette double ébullition, comme ayant conservé leur état initial.

Certaines mêmes ont été assez atteintes par la baryte pour avoir fourni à la première distillation de l'ammoniaque, qu'on a comptée à tort comme préexistante. Il n'y a pas d'autre moyen d'éviter cette cause d'erreur que de remplacer pour le dosage de l'ammoniaque la baryte par la magnésie. Encore même, lorsque le liquide putride renferme de l'urée, ce qui est théoriquement possible, l'ébullition en présence de la magnésie la décompose, comme M. Bous-

singault l'a montré, et il faut distiller dans le vide au-dessous de 40° pour distinguer l'ammoniaque toute formée de celle qui peut résulter de la décomposition de l'urée.

De même l'ébullition avec l'acide sulfurique peut modifier certaines matières albuminoïdes ou entraîner la décomposition de certaines amides ou acides amidés. Nous rencontrerons enfin, dans ce chapitre, certaines substances qui, sans être absolument volatiles à la température de l'ébullition, se laissent au moins entraîner par la vapeur d'eau, et peuvent être séparées par une distillation longuement prolongée. Ces substances, phénol, indol, scatol, doivent être distillées en présence non de l'acide sulfurique, mais de l'acide acétique.

Quand on dispose d'une quantité suffisante de matière, le mieux est de la fractionner, et d'en employer les diverses parties à des dosages différents.

Étude des acides volatils. — On sature par une base les acides volatils obtenus par distillation, on filtre et on évapore. S'ils sont en très faible quantité, on peut se renseigner exactement sur leur nature et sur leurs proportions en les soumettant à la distillation fractionnée, suivant les règles que j'ai posées dans une étude sur les acides volatils du vin dont j'ai déjà fait mention dans ce volume.

Si on en a une quantité suffisante, on les met en liberté par un acide fixe, et on soumet le mélange à la distillation. L'emploi du thermomètre permet d'en faire diverses portions, dans chacune desquelles domine un acide déterminé qu'on isole aussi bien que possible par une distillation nouvelle.

Dans ses études sur les produits de la putréfaction, M. Nencki a mis en œuvre, pour distinguer les uns des autres ces acides incomplètement séparés par la distillation, un procédé qui paraît donner de bons résultats. Il neutralise l'acide par du carbonate de guanidine, et chauffe le sel de guanidine obtenu jusqu'à ce qu'il dégage de l'ammoniaque. Il se forme ainsi des guanamines différentes entre elles, suivant les acides, par leur solubilité et leur forme cristalline. On peut même distinguer les uns des autres les acides homologues de même composition. Ainsi la guanamine de l'acide isobutyrique cristallise en rhomboèdres aigus tout à fait différents des cristaux que donne la guanamine de l'acide butyrique ordinaire. L'acide valérianique de fermentation donne une guanamine en prismes quadratiques à faces courbes. L'acide valérianique obtenu au moyen de l'alcool amylique du commerce forme au contraire des aiguilles rhombiques, unies les unes aux autres suivant leur axe principal. L'acide caproïque donne des pyramides quadratiques, etc. Il y a évidemment là un moyen de distinction et de caractérisation très précieux, pour peu que la forme cristalline du sel se produise avec quelque constance.

L'expérience montre qu'on peut rencontrer dans les liquides putrides tous les termes de la série des acides gras jusqu'à l'acide caproïque. Ces acides sont tantôt les acides normaux, tantôt leurs homologues. L'acide propionique est pourtant moins fréquent que les autres, peut être-parce qu'il a été souvent méconnu. L'acide formique est extrêmement rare. On ne sait du reste rien de général sur les causes qui font apparaître tantôt les uns, tantôt les autres. Si la nature de la matière albuminoïde y joue un rôle, ce qui est douteux, il est

sûr par les résultats que nous avons rencontrés à propos de la caséine que la nature des ferments y joue un rôle encore plus grand. C'est une question qu'on n'arrivera à résoudre qu'en se servant d'espèces pures.

Séparation du phénol, de l'indol et du scatol. — Pour isoler les produits volatils autres que les acides gras, on peut opérer de la façon suivante.

On acidule les liquides avec de l'acide acétique, et on distille en rajoutant de l'eau si cela est nécessaire, jusqu'à ce que le liquide distillé ne précipite plus par l'eau de brome. On neutralise le produit de la distillation avec de la soude et on l'agite avec son volume d'éther, qu'on sépare et qu'on redistille ensuite jusqu'à un petit volume. Les dernières portions sont abandonnées à une évaporation spontanée dans une capsule ; il y reste un faible résidu huileux qui se prend quelquefois en masse cristalline. On redissout le tout avec une petite quantité d'eau, on filtre à chaud, et on obtient par refroidissement le scatol en aiguilles cristallines.

Le liquide, séparé de ces cristaux, abandonne par évaporation l'indol sous forme de volumineuses aiguilles de couleur rouge.

La séparation de l'indol et du scatol, telle que la donne ce procédé, n'est pourtant pas aussi complète que quand on se sert du procédé suivant proposé par M. Brieger. Après avoir évaporé l'éther comme dans l'opération qui précède, on additionne le résidu d'un excès d'une solution d'acide picrique dans l'éther, jusqu'à ce que la masse se colore d'abord en rouge clair, puis en rouge sombre.

Après l'évaporation de l'éther, la combinaison picrique de scatol cristallise avec un peu d'indol, en aiguilles rouge foncé qu'on porte sur un filtre et qu'on débarrasse de l'acide picrique en excès par un lavage soigneux à l'eau froide. On dessèche ensuite les cristaux entre des doubles de papier, et on les distille dans une cornue tubulée avec un peu d'eau et des traces d'ammoniaque. Le scatol, remis en liberté, se volatilise avec la vapeur d'eau et vient se condenser sur les parois de la cornue en cristaux feuilletés blancs qu'il suffit de faire cristalliser dans l'eau chaude pour les avoir purs.

Ce procédé peut être modifié de la façon suivante. Après avoir évaporé l'éther qui tient en solution le scatol et l'indol, on ajoute au résidu un peu d'eau et un mélange chaud d'acide picrique et d'acide chlorhydrique. Il se sépare une masse cristalline qu'on dessèche entre des doubles de papier et qu'on distille avec de l'ammoniaque. On obtient une cristallisation faite d'un mélange de scatol et d'indol où le premier domine. On le redissout dans l'alcool absolu et on ajoute 8 à 10 volumes d'eau. L'indol reste en solution dans ce mélange. Le scatol se précipite. Nous allons le retrouver tout à l'heure.

Recherche du phénol. — Revenons aux eaux mères de notre première cristallisation de scatol, que nous avons vues pouvoir déposer par évaporation des aiguilles rouges d'indol. Quand on veut en retirer le phénol, on les rend alcalines par de la potasse et on les redistille en ajoutant de l'eau, aussi longtemps qu'il est nécessaire pour qu'il n'y reste plus d'indol ou de scatol. On acidule alors le résidu resté dans la cornue avec un peu d'acide sulfurique, on

filtre pour séparer un précipité amorphe qui se forme, et on redistille à nouveau. S'il y a du phénol, le liquide distillé en répand l'odeur, donne avec le chlorure de fer une coloration violette, et avec l'eau de brome un précipité cristallin de fines aiguilles.

Lorsqu'on se propose de rechercher surtout le phénol dans les liquides de fermentation putride, on peut, d'après M. Odermatt, arriver plus vite à le reconnaître, et dans une certaine mesure à le doser, en opérant sur le premier résidu de l'évaporation de l'éther. On l'introduit avec un peu d'eau et quelques gouttes de potasse dans une cornue tubulée, et on distille au bain de sable, en rajoutant quelquefois de l'eau si cela est nécessaire, jusqu'à ce que le produit distillé ne donne plus aucune coloration rouge avec l'acide nitrique fumant; cet acide précipite l'indol. Le précipité, qui a la formule $C^{16}H^7Az^2O^2$, est porté sur un filtre et pesé après avoir été desséché sur de l'acide sulfurique.

Le phénol est resté dans la cornue, retenu par l'alcali. On le met en liberté avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique, on distille de nouveau et on précipite le phénol par l'eau de brome dans le liquide distillé. Il se forme du tribromophénol qu'on pèse.

Le scatol, le phénol et l'indol ne sont pas les seules substances que contienne le résidu éthéré. Walehli y a découvert, dans une putréfaction de mucine, on y a rencontré depuis, dans des putréfactions d'albumine, et Brieger a retrouvé dans des excréments de chien nourri de pain et de viande, une huile jaunâtre, d'une odeur désagréable, irritant la muqueuse nasale, et qu'on n'a pu étudier, parce qu'elle est d'abord en très petite quantité, puis parce qu'elle est très facilement décomposable. Chauffée avec une lessive de soude, elle donne au bout de quelque temps un précipité amorphe rouge, désagréablement odorant.

On a rencontré cette huile dans les produits de la distillation de liquides pathologiques, provenant d'abcès ostéomyélitiques ou des exsudations pleurales et péritonéales de femmes mortes de fièvre puerpérale ou de carcinose généralisée. Elle est sans aucun doute partout le résultat de l'action des microbes, et il est à regretter qu'on n'ait pas plus de renseignements sur elle. On en a davantage sur le scatol, l'indol et le phénol, et nous allons résumer brièvement ce qu'on en sait.

Phénol. — C'est Baumann qui a le premier prouvé la présence constante du phénol dans tous les phénomènes de putréfaction. On peut l'en retirer sous forme de longues aiguilles incolores, fusibles à 37°,5. Il bout entre 182 et 183°. On sait que sa formule est $C^{12}H^6O^2$. Il a une odeur pénétrante et une saveur caustique. Il est peu soluble dans l'eau, soluble au contraire dans l'alcool, l'éther et l'acide acétique. Le perchlorure de fer donne avec ses solutions une coloration bleu violacé qui passe avec le temps au blanc sale. Un copeau de pin plongé dans une solution aqueuse d'acide phénique, puis dans de l'acide chlorhydrique, se colore en bleu intense à la lumière solaire. En trempant au contraire un copeau de pin dans la solution alcoolique de l'indol que nous allons étudier, on obtient une couleur rouge cerise.

Nous connaissons l'action exercée sur les solutions de phénol par l'eau bromée qui en fait du tribromophénol. Ce corps est d'abord à l'état de précipité

amorphe, mais finit par se transformer en un amas d'aiguilles brillantes qui, purifiées par sublimation, fondent à 95°.

Indol. — L'indol se présente sous la forme de cristaux feuilletés, fusibles à 52°, et reprenant l'aspect cristallin par refroidissement. Il a aussi l'odeur des matières fécales. En dissolution très étendue, il se colore en rouge intense, après addition d'acide nitreux ou d'une trace d'acide nitrique fumant. Sa formule chimique est $C^{16}H^{7}Az$. Nencki a montré que l'ozone le transformait en indigo bleu. Jaffé a montré d'un autre côté que l'injection de l'indol sur les animaux provoquait une notable augmentation de l'indigogène dans leurs urines. Il ne faut pas en conclure que cette matière colorante n'a pas d'autre origine que l'indol formé dans le canal intestinal. La vie normale des cellules de l'organisme s'accompagne, comme nous l'avons déjà dit, des mêmes produits que celle des cellules des infiniments petits, et Salkowski a montré, en effet, que l'on retrouvait de l'indigogène dans les urines de chiens soumis à l'inanition.

Scatol. — Le scatol cristallise de ses dissolutions en aiguilles blanches brillantes, irrégulièrement dentelées. Il est plus difficilement soluble dans l'eau que l'indol. Il s'en distingue encore par son odeur, qui est extrêmement fécale, et son point de fusion qui est à 93°,5, tandis que l'indol, comme nous l'avons vu, fond à 52°. De plus, ses dissolutions ne donnent aucune coloration avec l'eau de chlore, aucun précipité avec l'acide nitrique fumant, mais seulement un trouble blanchâtre. Additionnées d'un peu de nitrite de potasse et d'acide acétique, elles donnent un précipité blanc qui disparaît à la chaleur.

En chauffant doucement, avec une dissolution de scatol, une solution d'acide chromique, on obtient par refroidissement un précipité rouge amorphe. Le scatol ne donne aucune coloration avec le perchlorure de fer. Il se dissout dans l'acide nitrique étendu chaud et se précipite par refroidissement. Chauffé plus longtemps avec cet acide, il se décompose et donne des vapeurs dont l'odeur rappelle celle du nitrophénol.

La naphtylamine, dont l'odeur rappelle un peu celle du scatol, s'en distingue par son point de fusion (50°) et par sa forme cristalline. De plus, des traces de naphtylamine, chauffées avec du nitrate d'argent, donnent la couleur de Piria, la naphtaméine, tandis que le scatol, même en solution concentrée, ne donne dans les mêmes conditions ni trouble, ni changement de couleur.

M. Brieger attribue au scatol la formule $C^{20}H^{11}Az$, encore un peu douteuse à cause de la difficulté de purifier la substance et des petites quantités sur lesquelles il a été obligé d'opérer. Ce qui est sûr, c'est que cette substance ne renferme pas d'oxygène. Avec cette formule, elle est à l'indol ce que l'éthylbenzol est au benzol.

Le scatol injecté à des chiens, en petites quantités, jusqu'à 2 centigrammes ne provoque aucun effet toxique et semble passer dans les urines. A doses plus élevées, il devient un poison.

Variations dans la présence et les proportions de phénol, d'indol et de scatol. — Bien que ces trois éléments soient assez généra-

lement présents ensemble dans tous les phénomènes de putréfaction, ils ne se retrouvent pas partout, ou ne se retrouvent pas dans les mêmes proportions.

Odermatt a cherché, par exemple, à doser les proportions d'indol et de phénol formés, dans des circonstances en apparence identiques, avec diverses matières albuminoïdes. Il a trouvé que tantôt l'un de ces éléments manquait, tantôt les deux, et que leurs proportions étaient variables sans qu'il y ait de loi apparente dans leurs variations. Les proportions extrêmes d'indol ont varié entre 0 et 0,153 p. 100 de matière albuminoïde, celles du phénol entre 0 et 0,347 p. 100. C'est pour ce dernier une proportion maximum très supérieure à celle qu'avait trouvée Baumann. Nous avons signalé la présence de ces trois corps dans les fèces et le contenu du canal intestinal, où s'accomplissent, comme nous le savons, sur une large échelle, des phénomènes de putréfaction. Mais il y a à cet égard des différences singulières.

Chez les chiens nourris longtemps avec du pain ou de la viande, on ne trouve pas de scatol dans les fèces, mais seulement de l'indol, et la matière huileuse, à odeur irritante, dont nous avons parlé plus haut. Cette même matière huileuse se retrouve chez les hommes soumis à une riche alimentation de viande, mais ici l'indol est à peu près absent ou n'existe qu'en petites quantités, tandis que le scatol devient prédominant. En cherchant à se rendre compte de cette différence, M. Brieger a observé les faits suivants:

Du pancréas d'homme, abandonné pendant quatre jours à la putréfaction, à 40°, a donné de l'indol, pas de scatol. Il en a été de même pour de la viande ou du pancréas de veau, putréfié en solution alcaline, de même encore pour de la viande de bœuf humectée de bile. Du pancréas de bœuf avec de la bile a donné, outre l'indol, la matière huileuse dont nous parlions plus haut. Cette matière a à son tour été la seule matière volatile retrouvée dans la putréfaction de la bile à laquelle on avait ajouté un peu de pancréas putride; il y avait aussi, dans ce cas, un peu de phénol. De l'albumine d'œuf et de l'albumine d'un liquide d'ascite, précipitées par l'ébullition et un peu d'acide acétique, ont donné de l'indol et la substance huileuse. Enfin on a soumis à la putréfaction la ration entière des personnes dont les fèces contenaient du scatol, sans réussir à trouver cette substance dans les produits de cette sorte de digestion artificielle.

M. Brieger en conclut qu'il faut bien que la putréfaction se fasse, dans l'intestin de l'homme, dans des conditions qui ne sont pas celles des putréfactions artificielles, et qui ne se retrouvent pas non plus dans l'intestin du chien. Il n'y a là rien de surprenant. Ce ne sont pas les mêmes ferments qui entrent en jeu partout, et de plus, tout le long de la paroi intestinale se produisent des phénomènes d'absorption de liquides et de produits divers qui changent à chaque instant la nature et la consistance de la matière en fermentation. Ce qu'il y aurait d'étonnant, ce serait de voir toutes ces variations ne pas se traduire extérieurement par des différences dans la nature des produits. La digestion intestinale peut être en grande partie le fait des ferments, et chaque animal peut avoir cependant la sienne, qui résulte de son mode d'alimentation, de la quantité et de la qualité de ses sucs digestifs, de la longueur et des facultés absorbantes de son canal intestinal. N'oublions d'ailleurs pas que la connaissance des faits que nous venons de résumer est toute récente, et qu'avant de chercher à s'expli-

quer pourquoi les intestins de l'homme renferment du scatol, et ceux du chien de l'indol, il faut d'abord rechercher avec soin si cette différence est fortuite, ou si elle dépend d'une loi physiologique.

BIBLIOGRAPHIE

NENCKI. — Uber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Faulniss mit Pankreas, *Fetschrift, Bern.* 1876, et *Journal f. Prakt. chem.* (2e S.), t. XV, p. 397, 1877.

BRIEGER. — Uher die fluchtigen Bestandtheile der menschlichen Excremente. *Ber. Ber. chem. Gesell*, t. X, p. 1027, 1877, et *J. f. Prakt. Chem.*, t. XVII, p. 124, 1879.

ODERMATT. — Zur Kentniss der Phenolbildung bei der Faulniss der Eiweisskorper. *J. f. prakt. Chem.*, t. XIX, 1880.

JAFFÈ. — Uber die Ausscheidung des Indicans unter physiologischen und pathologischen Verhaltnissen. *Virchow's Archiv.*, t. LXX.

BAUMANN.— Uber die Bildung von Phenol bei der Faulniss von Eiweisskorpern. *Bericht. d. Berl. chem. Ges.*, 1877, p. 685.

CHAPITRE LXVIII

PRODUITS FIXES DE LA PUTRÉFACTION

Les liquides putrides, débarrassés de leurs acides et de leurs alcalis volatils par l'une quelconque des méthodes indiquées au chapitre précédent, peuvent généralement être amenés, par une simple évaporation à consistance sirupeuse, à déposer sous forme cristalline toutes les substances peu solubles qu'ils renferment, et parmi lesquelles, la tyrosine d'abord, la leucine ensuite, se déposent d'ordinaire les premières. Quand on veut étudier de plus près ce qui reste en solution dans le magma sirupeux qui a laissé déposer ces cristaux, on peut employer les méthodes mises en œuvre par M. Schutzemberger pour étudier les produits d'autophagie de la levure. Nous les avons indiquées au chapitre XXXV. Mais elles ne s'étendent pas à la totalité des substances si variées qu'on peut rencontrer dans les liquides putrides, et dont beaucoup ne peuvent être retrouvées qu'en les cherchant individuellement dans une portion du liquide qui les contient.

Aussi, dans les quelques renseignements que nous allons donner sur chacune d'elles, ferons-nous entrer, quand cela sera nécessaire, les moyens de la déceler et les réactions les plus caractéristiques qu'elle fournit.

L'incertitude où l'on est sur la composition de beaucoup d'entre elles, fait qu'on ne peut guère mettre d'ordre logique dans leur étude. Nous adopterons une classification artificielle, mais qui ne sera pas sans valeur pratique, en les rangeant par ordre d'importance, c'est-à-dire en commençant par celles qui sont les plus répandues, ce qui revient à dire les mieux connues.

Leucine. — A ce point de vue, la leucine mérite d'être placée au premier rang. Il suffit d'évaporer à consistance sirupeuse un liquide putride pour la voir se déposer à la surface, par refroidissement, sous forme de croûte quelquefois assez épaisse, et sur les parois du vase à l'état de rognons plus ou moins mamelonnés. Au microscope, elle apparaît sous forme de plaques rondes, formées de cristaux très fins, irradiant autour d'un centre. Fréquemment des différences d'éclat ou de cohérence partagent la plaque ronde en une série de cercles concentriques. D'autres fois, l'aspect est très homogène, et on croirait avoir sous les yeux des globules de matière grasse. Souvent aussi, ces plaques

rondes se soudent les unes aux autres en forme de choux-fleurs, et donnent des masses à contours plus ou moins irréguliers. Enfin, on rencontre aussi la leucine sous la forme de deux masses en éventail à branches courbes réunies par un pédicelle commun.

Ces cristaux sont facilement solubles dans l'eau, les acides et les alcalis. L'alcool et l'éther les dissolvent, au contraire, difficilement. Pour les étudier, on les sépare du liquide qui les imprègne en les comprimant dans du papier joseph, on les dissout dans une goutte d'acide azotique sur un verre de montre, en les remuant avec un fil de platine, et on évapore lentement. Le résidu incolore qu'on obtient fournit, lorsqu'on le chauffe avec quelques gouttes de lessive de soude, une coloration qui varie du jaune au brun, et fond, quand on continue à chauffer, sous forme d'une goutte huileuse. C'est la réaction de Schérer. On peut aussi chauffer les cristaux au fond d'un tube à essai un peu étroit ; on les voit fondre, abandonner au fond du tube une matière huileuse, et laisser échapper en flocons blancs la leucine, qui va se condenser sur les parois froides du tube sous forme d'une masse cristallisée. En même temps il se dégage une odeur d'amylamine.

La leucine se colore aussi en rouge intense en présence du perchlorure de fer. Mélangée d'une goutte de phénol, elle fournit une solution qui prend une teinte bleue intense après l'addition d'un peu d'hypochlorite de soude. Mais cette réaction est moins caractéristique. Elle lui est commune avec le glycocolle.

Bouillie avec un excès d'hydrate de cuivre, elle dissout une partie de l'oxyde, et il se dépose par refroidissement de petites écailles brillantes, d'un bleu violet clair. Ce composé renferme $3(C^{12}H^{13}AzO^{4}),4CuO$.

Avec de l'acétate de cuivre, la leucine donne un composé cristallin, signalé pour la première fois par Kohler, et qui a la composition $7(C^{12}H^{13}AzO^{4}),8CuO$. Nous verrons bientôt que là aussi il y des ressemblances avec le glycocolle.

La leucine et le glycocolle sont en effet des corps de la même famille. La leucine, avec sa formule $C^{12}H^{13}AzO^{4}$ ou $C^{12}H^{11}(AzH^{2})O^{4}$, est l'acide amidocaproïque, le glycocolle $C^{4}H^{5}AzO^{4}$ ou $C^{4}H^{3}(AzH^{2})O^{4}$ est l'acide amidoacétique.

Cette constitution de la leucine permet l'existence de diverses leucines isomériques. Nencki paraît avoir rencontré, dans le liquide de putréfaction d'un pancréas, traité comme nous l'avons dit plus haut, une leucine douée d'une faible saveur douce et exigeant pour se dissoudre 43 parties d'eau, tandis que la leucine type, celle que Zollikofer a obtenue par l'action de l'acide sulfurique sur le tissu élastique, est sans saveur et se dissout dans 27 parties d'eau. Celle que M. Cahours, et plus tard Hufner ont préparée synthétiquement par l'ammoniaque et l'acide bromocaproïque semble être la même que celle de Zollikofer. Celle qu'on obtient en traitant l'aldéhyde valérianique par l'acide cyanhydrique et par l'acide chlorhydrique n'est qu'isomère avec celle de Zollikofer.

Il est d'ailleurs possible que ce qu'on recueille comme leucine, en abandonnant à la cristallisation des liqueurs suffisamment concentrées, ne soit pas toujours de la leucine pure. mais contienne un mélange de leucine ou d'acide amidocaproïque avec un acide amidé plus pauvre en carbone, peut-être l'acide amidovalérianique.

La leucine peut fermenter et donner du valérianate d'ammoniaque, de

l'hydrogène et de l'eau; mais cette transformation a été mal étudiée et on ne sait sous quelles influences elle s'accomplit.

Glycocolle. — A côté de la leucine, nous placerons, à cause de la fréquence avec laquelle on le rencontre, le glycocolle ou sucre de gélatine, découvert par Braconnot. On peut le rechercher dans les eaux mères qui ont laissé déposer la leucine, en les traitant par l'alcool, qui quelquefois précipite le glycocolle en gros cristaux incolores, transparents, appartenant au système monoclinique. Quand il ne se sépare rien, on fait bouillir le liquide avec du carbonate de cuivre, on le filtre et on l'additionne de son volume d'alcool. Par le refroidissement, on obtient des touffes d'aiguilles bleues, en triangles isocèles opposés par le sommet, et contenant, lorsqu'elles sont sèches, 27,66 p. 100 de cuivre.

On peut en séparer le glycocolle au moyen de l'hydrogène sulfuré.

Le glycocolle est soluble dans l'eau et dans l'alcool étendu. Il est insoluble dans l'alcool absolu et dans l'éther. Il réduit, d'après M. Engel, déjà à froid, mais surtout à chaud, l'azotate mercureux. Il donne, soit avec le perchlorure de fer, soit avec une goutte de phénol et de l'hypochlorite de soude, les mêmes réactions que la leucine.

On rencontre fréquemment le glycocolle dans les liquides putrides. M. Jeanneret en a trouvé dans toutes les putréfactions de gélatine qu'il a étudiées, en compagnie de l'acide butyrique et du carbonate d'ammoniaque. Il n'est pas inutile d'indiquer ce qu'il y a de ces divers éléments dans les liquides analysés. Voici les nombres qui résument trois expériences faites à peu près dans les mêmes conditions sur la gélatine, et accomplies tout à fait à l'abri de l'air.

	I	II	III
Durée de la putréfaction	11 jours	16 jours	19 jours
Poids de gélatine employée	164gr,27	123gr,43	82gr,58
Ammoniaque	5,99 p. 100	8,63 p. 100	10,68 p. 100
Acide carbonique	10.39 —	7,74 —	6,38 —
Acide butyrique	33,93 —	35,37 —	31,67 —
Glycocolle	3,37 —	2,03 —	8,88 —
	53,68 —	53,77 —	57,61 —

On voit que dans toutes ces putréfactions il s'est formé des quantités sensibles de glycocolle. La première a en outre donné un peu de leucine. Il y avait partout des acides autres que l'acide butyrique, en particulier de l'acide acétique et de l'acide valérianique, mais en proportions très faibles. Des putréfactions de gélatine, faites par M. Nencki au contact de l'air, ont donné à peu près les mêmes résultats.

Dans des putréfactions de fibrine, faites aussi en présence du tissu du pancréas, nous allons trouver d'autres acides amidés. Telle la tyrosine.

Tyrosine. — La tyrosine se dépose par cristallisation, souvent en même temps que la leucine, quelquefois même avant, si elle est abondante, et on la voit à l'œil nu, si elle est en quantité assez grande, sous la forme de masses

blanches plus ou moins volumineuses, réparties dans la matière ou le tissu qui se putréfie, et y formant des sortes de géodes.

Quand elle est peu abondante, elle se précipite surtout quand on concentre les eaux mères qui ont fourni la première cristallisation de leucine. On la voit au microscope sous forme d'aiguilles noires et fines fortement serrées les unes contre les autres, irradiant autour d'un point dans deux sens différents, et affectant des formes de sablier. Ces cristaux sont très peu solubles dans l'eau froide, assez solubles dans l'eau bouillante, insolubles dans l'alcool et dans l'éther. On les purifie en les dissolvant avec l'aide de l'ammoniaque dans une petite quantité d'eau bouillante, et les précipitant ensuite par l'acide acétique.

M. Huber a montré que la tyrosine pouvait aussi se présenter sous forme de cristaux rhomboédriques, qu'il a pu dès lors assimiler à des produits morphologiques spéciaux décrits par MM. Vulpian et Charcot sous le nom de cristaux albuminoïdes. Ces cristaux sont une forme dimorphique de la tyrosine, et peuvent repasser à l'état d'aiguilles sous certaines influences.

Dans les deux cas, cette tyrosine présente une réaction spéciale, indiquée par Hoffmann. Quand on la fait bouillir avec du nitrate mercurique renfermant une trace d'acide nitreux, elle donne une belle coloration rouge et bientôt après un précipité brun rouge.

Piria a indiqué une autre réaction. Quand on chauffe doucement la tyrosine avec quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, elle se dissout, et le liquide prend une coloration rouge intense passagère. On ajoute alors de l'eau et du carbonate de baryte jusqu'à neutralisation, on soumet ensuite la liqueur à l'ébullition pour précipiter le bicarbonate de baryte qui a pu se former, on filtre, et si on ajoute goutte à goutte une solution de perchlorure de fer, on obtient une belle coloration violette.

Chauffée avec de la chaux sodée, la tyrosine développe l'odeur de l'acide phénique. Chauffée dans un tube de verre, elle fond et se décompose avec une odeur désagréable.

La tyrosine accompagne presque toujours la leucine. Elle n'appartient pourtant pas à la même série de composés. Elle renferme un résidu benzinique, et est probablement un des trois acides oxybenzoïques prévus par la théorie. Sa formule est

$$C^{18}H^{11}AzO^{6}.$$

Elle se rencontre surtout dans les putréfactions de caséine et dans le fromage, où elle a été découverte et d'où elle tire son nom. On la rencontre pourtant aussi ailleurs. Nous allons la trouver dans les putréfactions de fibrine unie à la butalanine.

Butalanine. — La butalanine se dépose d'ordinaire après la tyrosine sous forme d'une poudre blanche faite de petites écailles, qui apparaissent au microscope comme des tablettes très minces et très délicates, à six pans inégalement développés, et agglomérées les unes contre les autres. Quelquefois elle a la forme d'aiguilles étoilées. Cette substance ressemble à la leucine; elle est assez facilement soluble dans l'eau, plus facilement dans l'eau acidulée. Elle est

presque insoluble dans l'alcool froid et dans l'éther. Elle se dissout beaucoup moins facilement que la leucine dans l'alcool bouillant; chauffée doucement, elle se sublime sans décomposition.

Ces analogies de propriétés avec la leucine ont des causes profondes; c'est que la butalanine est l'acide amidovalérianique. Elle a par conséquent pour formule chimique

$$C^{10}H^{11}AzO^{4} \text{ ou } C^{10}H^{9}(AzH^{2})O^{4}.$$

Ces trois substances : leucine, tyrosine et butalanine, sont presque toujours associées ensemble dans les fermentations de caséine ou de fibrine. Bien que leur séparation et leur dosage soient difficiles, M. Nencki et M. Jeanneret en ont mesuré approximativement les proportions dans des putréfactions accomplies sur de l'albumine au contact et à l'abri de l'air. Voici les résumés de leurs travaux.

L'expérience n° I a été faite par M. Nencki au contact de l'air, les expériences II et III par M. Jeanneret à l'abri de l'air, dans des liquides bouillis d'avance. Il y avait donc eu dans un cas intervention concomitante des aérobies et des anaérobies; dans le second, intervention des anaérobies seuls. On a ramené tous les résultats à 100 parties d'albumine employée, supposée à l'état sec et privée de cendres.

	I	II	III
Durée de la putréfaction	8 jours	13 jours	29 jours
Ammoniaque	11,00	5,73	10,83
Acide carbonique	5,37	4,79	5,26
Acide butyrique	32,65	23,02	34,86
Leucine, tyrosine, butalanine	3,55	11,45	12,05
	52,57	44,99	61,00

On voit que dans tous les cas on trouve, à l'état de produits gazeux ou cristallisables, une forte proportion de la matière organique initiale. Mais il en reste toujours dans le liquide une proportion assez notable non décomposée. Nous reviendrons bientôt sur ce fait.

Remarquons aussi que pour une plus courte durée de la putréfaction, l'expérience n° 1, faite au contact de l'air, a donné plus d'ammoniaque et moins de leucine et de tyrosine que les putréfactions à l'abri de l'air. Il peut y avoir eu là une influence de la nature des germes entrés en action, mais le résultat est d'accord avec ce que nous ont appris d'une façon sûre nos expériences sur la caséine, à savoir qu'au contact de l'air, la transformation est plus profonde et donne, toutes choses égales d'ailleurs, des produits plus alcalins.

Tous les corps que nous avons étudiés jusqu'ici sont des acides amidés. Les acides à cet état sont, dans la série grasse, les acides acétique donnant le glycocolle, valérianique donnant la butalanine, et caproïque donnant la leucine.

Les acides propionique et butyrique manquent à la série; mais les termes correspondants amidés apparaîtront peut-être, quand on étudiera des putréfactions produites par des espèces pures. Nul doute en effet qu'ils ne puissent être détruits dans le conflit des mélanges d'espèces sur lesquels on a opéré jus-

qu'ici. C'est ainsi que l'urée, quelquefois très abondante, n'a pu être découverte qu'en isolant les espèces actives, à raison de la facilité avec laquelle elle se transforme en carbonate d'ammoniaque.

Produits alcalins de la putréfaction. — Nous allons maintenant rencontrer des produits plus ou moins alcalins et qui rappelleront la structure, soit des ammoniaques composées, soit des alcaloïdes organiques. Leur existence dans les produits de la putréfaction est connue depuis longtemps, mais ils ont frappé beaucoup l'attention dans ces dernières années à cause du nom nouveau qu'on leur a donné, et des chances d'erreur que leur existence et leur formation en apparence spontanée dans le cadavre, peuvent apporter dans la recherche des alcaloïdes toxiques dans les expertises de médecine légale.

Les premières recherches de matières toxiques dans les produits de la putréfaction cadavérique ou artificielle ont été entravées par une cause d'erreur contre laquelle nous devons tout de suite nous mettre en garde. Après avoir isolé ces matières par des traitements divers, on les essayait en les inoculant, en volume plus ou moins grand, à des lapins ou à des chiens. Or, fréquemment le traitement adopté pour les isoler avait conduit à y laisser, tout à fait à l'insu de l'observateur, des germes des êtres divers présents dans le cadavre au moment de la mort, ou ayant pris part au phénomène de putréfaction artificielle. Nous savons que parmi ces germes, il y a toujours ou presque toujours des germes de vibrions septiques, qui sont peut-être en nombre aussi grand que les diverses manifestations morbides qu'on rassemble sous ce nom unique de septicémie.

Quoi qu'il en soit, ces germes qui résistent à l'ébullition et a l'action de l'alcool, qui se déposent avec les précipités solides que les réactifs forment dans les liqueurs, qui se remettent en suspension dans l'eau quand on redissout ces précipités, qui passent à travers tous les filtres de papier, qui sont souvent en si petite quantité, que la transparence de l'eau n'en est pas troublée, pénétraient dans le corps de l'animal inoculé en même temps que le liquide dont on voulait essayer l'action, et y produisaient la maladie virulente qui est leur œuvre. On voulait étudier un effet d'empoisonnement, on avait un effet d'inoculation, et on a souvent confondu, à l'origine, ces deux effets l'un avec l'autre, et souvent attribué à un liquide inoffensif des propriétés toxiques, parce qu'on voyait l'animal périr après l'injection, avec des accidents variés, parmi lesquels les symptômes de septicémie étaient pourtant d'ordinaire prédominants.

Il est théoriquement très facile de distinguer les deux ordres d'effets. L'inoculation d'un microbe dans l'organisme ne produit un résultat sensible qu'après un certain temps, une période d'incubation qui correspond à la lutte sourde entre les cellules de l'être inoculé et celles du parasite. L'effet d'un liquide toxique est au contraire immédiat, ou, du moins, n'exige pour se manifester que le temps nécessaire au transport du poison par la circulation et à l'intoxication des éléments anatomiques auxquels il peut s'adresser. Ce temps est variable avec le mode et le siège de l'injection, la quantité de poison introduite, la facilité avec laquelle il est éliminé de l'organisme; mais l'effet maximum est géné-

ralement atteint au bout de quelques heures, après lesquelles les symptômes, lorsqu'il n'y a pas eu mort, s'évanouissent peu à peu.

Dans la pratique cette différence que nous signalons est quelquefois peu marquée, et il en résulte une cause d'erreur, qui a été souvent présente et qu'on ne peut sûrement éliminer qu'en filtrant le liquide à inoculer sur de la terre de pipe, qui ne laisse passer aucun élément figuré. Nous ne compterons dans l'énumération que nous allons faire, comme dues à des matières produites par la putréfaction, que les expériences dont le résultat sera manifestement dû, d'après les caractères signalés plus haut, aux effets d'un poison en solution dans le liquide injecté.

Sepsine. — Le premier corps jouissant de propriétés toxiques a été découvert par Bergmann en 1866, et étudié depuis par Bergmann et Schmiedeberg. On le rencontre surtout dans la levure putréfiée. On le prépare par le procédé suivant : On soumet à la diffusion sur du papier parchemin la bière putride, on acidule par l'acide chlorhydrique le produit diffusé, et on y ajoute une solution de sublimé corrosif qui produit d'abord un trouble faible, et après quelque temps, un précipité floconneux. On filtre, on traite le résidu par du carbonate de soude, de façon à le rendre fortement alcalin, et on précipite à nouveau par le sublimé, on filtre à nouveau, on lave le dépôt sur filtre, on le met en suspension dans l'eau, et on le décompose par l'hydrogène sulfuré. On filtre à nouveau, on ajoute du carbonate d'argent pour éliminer l'acide chlorhydrique resté dans la liqueur, on rajoute quelques gouttes de dissolution d'acide sulfhydrique pour éliminer, si c'est nécessaire, l'argent qui a pu se dissoudre, et on évapore à sec la dissolution maintenant alcaline. On traite le résidu par l'alcool qui ne redissout pas tout, et, en ajoutant à l'alcool de l'acide sulfurique, on obtient un précipité cristallin incolore ou faiblement coloré en jaune. On purifie ces cristaux en les redissolvant dans l'eau, et en les reprécipitant par l'alcool.

Ils ont des propriétés toxiques énergiques. Inoculés à deux chiens sous le poids de 1 centigramme, ils ont déterminé des vomissements immédiats, et après quelque temps une diarrhée qui chez un des chiens est devenue sanguinolente. A l'autopsie on a trouvé des ecchymoses dans le tube digestif. Des grenouilles ont été aussi empoisonnées par le même corps.

Ce poison a été très discuté sous le nom de sepsine. On a dès l'origine rapproché ses effets de ceux que Gaspard, Barthelémy, et Stich avaient observés en inoculant à des animaux des matières putrides. Mais comme ces effets étaient très mêlés, dus qu'ils étaient tantôt à des actions toxiques, tantôt à des inoculations virulentes, l'incertitude où on était à leur sujet s'est étendue aux résultats de Bergmann et Schmiedeberg ; et comme, d'un autre côté, ces deux savants ne réussissaient pas toujours à retirer de la sepsine des matières putrides, même en opérant toujours sur de la bière putréfiée, on a fini par douter de leurs premiers résultats. Il ne semble pourtant pas douteux qu'ils n'aient rencontré, au moins une fois, un alcaloïde toxique, soluble dans l'alcool, précipitable par le sublimé corrosif, c'est-à-dire possédant quelques-uns des caractères de ceux qu'on a retrouvés depuis dans les mêmes conditions.

Alcaloïde septique de Zulzer et Sonnenschein. — MM. Zulzer et

Sonnenschein ont rencontré à leur tour en 1869, dans des infusions de viande vieilles de cinq à huit semaines, un alcaloïde dont les réactions d'ordre chimique leur ont rappelé l'atropine et l'hyosciamine, et dont les propriétés physiologiques ressemblaient aussi à celles de ces alcaloïdes végétaux. L'injection de cette substance a produit, entre autres symptômes, la dilatation de la pupille, la paralysie des muscles de l'intestin, et l'augmentation de l'activité du cœur, à peu près comme l'atropine. Le fait fondamental de la formation, pendant la putréfaction des matières albuminoïdes, d'un alcaloïde toxique que ses propriétés chimiques et physiologiques pourraient faire confondre avec les alcaloïdes végétaux toxiques a donc été annoncé pour la première fois d'une façon nette par Zulzer et Sonnenschein. Malheureusement, pas plus que MM. Bergmann et Schmiedeberg, ces deux savants ne réussissaient à retrouver dans tous les cas leur alcaloïde, et ils ont dû considérer sa présence ou au moins ses propriétés toxiques comme essentiellement inconstantes.

C'est peut-être pour cette raison que les résultats ci-dessus paraissent avoir été oubliés, lorsqu'en 1872, Selmi, à Bologne, insista sur la présence fréquente, dans les extraits de cadavres de personnes mortes naturellement, de substances possédant les caractères généraux des alcaloïdes, et qui ont été désignées du nom très impropre de Ptomaïnes (*Ptoma:* cadavre). Ce nom n'indique en effet aucune parenté générique entre les corps qui le portent, et de plus, la seule mention qu'il contienne, celle de leur origine cadavérique, est inexacte en ceci, qu'on rencontre ces mêmes corps dans tous les liquides putréfiés, et même, comme l'a montré M. Gautier, dans les tissus vivants les plus sains.

Recherches de Selmi. — C'est en appliquant, dans une expertise, les procédés de Stas et Otto à la recherche des alcaloïdes dans un cadavre que Selmi rencontra, en solution dans l'éther, l'alcool amylique ou le chloroforme mis en contact avec les extraits alcooliques de la matière cadavérique, des alcaloïdes précipitant par le tannin, l'acide iodhydrique ioduré, le chlorure d'or. Tous ces corps donnaient un rouge plus ou moins violacé quand on les chauffait avec l'acide sulfurique, et une coloration violette, belle quoique légère, quand au résidu d'évaporation de deux ou trois gouttes de leur solution aqueuse, on ajoutait trois gouttes d'acide chlorhydrique et une goutte d'acide sulfurique en chauffant légèrement.

Quelques-uns réduisaient l'acide iodique. Avec d'autres on obtenait une coloration rose lorsqu'on ajoutait à quelques gouttes de leur solution aqueuse, évaporée à sec, une goutte d'acide iodique, puis deux gouttes d'acide sulfurique, et enfin, après avoir agité, un peu de bicarbonate de soude en poudre pour saturer les acides, avec adjonction d'une gouttelette d'eau dans le cas où la réaction tarde à se produire.

Avec l'acide nitrique, ces ptomaïnes donnaient, en chauffant un peu, et après addition d'un peu de potasse, une coloration jaune d'or.

On reconnaît là quelques-unes des réactions colorées fournies par les alcaloïdes végétaux. Tous ces phénomènes n'avaient pas une grande constance. Tel procédé d'extraction qui pouvait avoir fourni un produit ayant telles ou telles propriétés, pouvait à un moment donné rester sans résultat, ou bien conduire

à un corps ayant des propriétés différentes. Mais ce qui restait constant, c'était la possibilité de retirer d'un cadavre quelconque des alcaloïdes quelquefois fixes ou même volatils, nombreux en apparence, ayant des propriétés toxiques, et que leurs réactions permettaient de confondre avec les alcaloïdes de la toxicologie. Avec la plupart d'entre eux, les symptômes généraux de l'empoisonnement étaient la dilatation passagère de la pupille, le ralentissement et l'irrégularité des pulsations cardiaques, des mouvements convulsifs, laissant le cœur épuisé de sang et contracté après la mort.

Il serait évidemment très intéressant de pouvoir distinguer sûrement ces alcaloïdes de la putréfaction des alcaloïdes employés comme remèdes ou comme toxiques. En 1881 MM. Brouardel et Boutmy avaient cru trouver pour cela un réactif sûr dans le ferricyanure de potassium, que les ptomaïnes réduisent presque instantanément, tandis que tous les alcaloïdes végétaux, sauf la morphine et l'atropine, ne le réduisent qu'avec une lenteur plus ou moins grande. Mais comme l'ont montré M. Gautier et M. Spica, cette réaction est insuffisante et ne saurait devenir caractéristique.

Il y a plus. M. Gautier et d'autres savants ont fait voir que ces alcaloïdes se retrouvaient dans les produits de la vie physiologique des tissus. S'il en est ainsi, il est illusoire de chercher une réaction qui distingue les alcaloïdes cadavériques des alcaloïdes normaux, puisque théoriquement rien ne distingue les deux origines. Ce qu'il faut, c'est, au lieu d'opérer sur les mélanges complexes de ptomaïnes et de substances diverses qu'on a soumis jusqu'ici à l'action des réactifs, d'isoler autant que possible ces divers alcaloïdes, de les purifier et d'étudier leurs propriétés physiques, chimiques et physiologiques.

C'est la tâche que s'est donnée M. Gautier qui, après avoir mentionné, dès 1873, la formation, pendant la putréfaction, d'alcalis organiques complexes, sans signaler pourtant leur toxicité, est revenu depuis sur cette étude.

Les produits liquides de la fermentation du scombre, après qu'il en a eu retiré tout ce qui est volatil, sont alcalinisés par la baryte, filtrés et agités avec le chloroforme qui dissout les bases. Pour les extraire, on fractionne les produits de la distillation du chloroforme, et on les traite par une solution d'acide tartrique qui laisse une résine brune. Les dissolutions tartriques des alcaloïdes, sursaturées de potasse, dégagent une vive odeur de carbylamines, et mettent en liberté des bases huileuses qui surnagent; on les enlève par l'éther et on les sèche dans le vide.

Ce sont des liquides huileux incolores, bleuissant le tournesol, saturant les acides forts, donnant avec l'acide nitrique, chlorhydrique, le ferricyanure de potassium et les sels ferriques, les réactions que nous avons signalées plus haut, précipitant par le brome, l'iode, les phosphomolybdates. Elles se résinifient assez rapidement. Leurs chlorhydrates bien cristallisés en feuilles de fougère et en cristaux de neige sont neutres. Leurs chloroplatinates sont peu solubles et cristallins. L'odeur de ces alcaloïdes est faible mais tenace, et rappelle l'aubépine et l'hydrocollidine.

L'une de ces bases, provenant des premiers extraits chloroformiques, répond assez bien à la formule d'une parvoline $C^{18}H^{13}Az$. Elle donne un chloroplatinate qui devient rose à l'air.

L'alcaloïde provenant des derniers extraits chloroformiques est une base incolore, huileuse, d'un goût amer et phénolique, très caustique, d'une odeur vireuse, rappelant à la fois le phénol et la fleur d'aubépine. Il bout vers 210°, sa densité est 1,0296. Il donne un chlorhydrate en fines aiguilles et amer. Son chloroplatinate, jaune pâle, est cristallisé et peu soluble. Il se redissout à chaud et se prend en aiguilles recourbées. Le chloroaurate est très instable. La base répond à la formule $C^{16}H^{13}Az$. Cette formule la rend isomérique avec l'hydrocolline que MM. Cahours et Etard ont retirée de la nicotine, et le point d'ébullition, l'odeur, la viscosité et les propriétés générales rapprochent du reste tout à fait les deux bases.

Cette base est très toxique. Un pierrot qui en avait reçu moins de un milligramme et demi à l'état de chlorhydrate est mort en moins d'une heure avec stupeur, paralysie et contractions tétaniques. Le cœur a été trouvé en diastole, le sang liquide. L'action sur la pupille est nulle. Un friquet qui en avait reçu sept milligrammes, a été au bout de deux minutes pris de vomissements, de spasmes tétaniques, et est mort en quarante-cinq minutes. Ces effets sont comparables à ceux des venins.

Ce sont là tous les renseignements précis que nous ayons encore sur les alcaloïdes de la putréfaction. On voit qu'ils ne sont pas nombreux.

C'est que l'étude est difficile, et que la variété des conditions et des êtres qui président à l'accomplissement des putréfactions donne naissance à des mélanges d'alcaloïdes à la fois très complexes, et très variables de composition. Nous allons trouver une nouvelle preuve de ce fait, en étudiant un alcaloïde vénéneux qui semble avoir été rencontré surtout dans les cadavres de personnes ou d'animaux empoisonnés par l'acide arsénieux.

Alcaloïdes vénéneux formés en présence de l'arsenic. — En 1878, Selmi a fait connaître deux cas dans lesquels il a obtenu avec des cadavres exhumés, contenant de l'arsenic, des alcaloïdes cristallins et fortement vénéneux. Dans le premier cas, il a opéré sur un cadavre exhumé quatorze jours après l'inhumation ; le corps paraissait bien conservé, ainsi que c'est l'ordinaire en pareil cas, et on y a trouvé une assez grande quantité d'arsenic. Quand, pendant la recherche des alcaloïdes il a traité par l'éther le liquide rendu alcalin par la baryte, il a obtenu une petite quantité d'une substance, cristallisable en aiguilles, fournissant aussi des sels cristallisables, et précipitant par les réactifs principaux des alcaloïdes.

Dans un autre cas, avec un cadavre vieux d'un mois, le même procédé lui donna un alcaloïde cristallisé aussi, n'ayant pourtant pas toutes les mêmes réactions que le précédent, mais existant en plus grande quantité, et dont on put étudier les propriétés toxiques qui apparurent énergiques.

Selmi rechercha dans cet alcaloïde la présence de l'arsenic, puis celle du phosphore, mais sans résultats.

Plus tard, Selmi a rencontré dans l'estomac d'un porc, conservé dans une dissolution d'acide arsénieux, un alcaloïde volatil, d'une odeur particulière, rappelant celle de la triméthylamine, mais sans pouvoir être confondue avec elle, donnant un chlorhydrate cristallisé et non déliquescent, jouissant de pro-

priétés toxiques asssez intenses analogues à celles de la strychnine, et renfermant de l'arsenic.

En outre de cette base volatile, il s'était formé aussi une base fixe donnant quelques-unes des réactions des alcaloïdes végétaux, renfermant de l'arsenic, et possédant aussi des propriétés toxiques qui la rapprochent des alcaloïdes de la putréfaction ordinaire. Elle produit la torpeur, la paralysie et l'inactivité systolique du cœur.

Ces recherches jettent de la lumière sur un des points les plus curieux et les plus obscurs de l'histoire de la toxicologie. On sait le degré d'habileté auquel étaient arrivés, en Italie surtout, les fabricants de poisons, Toffa, par exemple, qui a laissé l'*aqua toffana*. Ce liquide toxique, comme celui qui est encore employé sous le nom d'*acquetta di Perugia*, paraît avoir été toujours préparé en recueillant les liquides qui s'écoulent naturellement d'un porc éventré et saupoudré d'acide arsénieux, puis abandonné à lui-même pendant quelque temps. Il se forme là certainement, soit des arsines particulières, soit des arsénites plus facilement absorbables, soit encore, d'après les recherches de Selmi, des alcaloïdes vénéneux arséniés, qui donnent au liquide des propriétés toxiques plus violentes que ne le serait une simple dissolution d'acide arsénieux.

Narcotiques produits pendant la putréfaction. — A côté des alcaloïdes dont nous venons de résumer l'histoire, nous sommes conduits à placer des corps moins bien connus dans leurs caractères chimiques, mais qui sont produits par l'action des microbes, et que leurs propriétés rapprochent des alcaloïdes de l'opium.

Panum a obtenu, il y longtemps, un corps de cette nature, en évaporant l'extrait alcoolique d'une macération de viande. L'injection d'une petite quantité d'une dissolution aqueuse de cette substance dans la veine jugulaire d'un gros chien, a provoqué chez lui un sommeil ininterrompu de vingt-quatre heures, après quoi l'animal s'est réveillé et est redevenu aussi vif qu'auparavant.

Narcotique du choléra des poules. — Dans ses études sur le choléra des poules, M. Pasteur a rencontré un fait à rapprocher du précédent. L'un des symptômes de cette maladie les plus frappants est la somnolence invincible dont l'animal est atteint. Si on l'oblige à ouvrir les yeux, il paraît sortir d'un profond sommeil, mais bientôt les paupières se referment, et l'animal meurt quelquefois comme endormi, sans changer de place, après une muette agonie.

Le microbe qui produit cette maladie est formé de petits articles immobiles, d'une ténuité extrême, légèrement étranglés en leur milieu, et qu'à première vue on prendrait, lorsqu'ils sont un peu nombreux, pour des points isolés, formant un pointillé très fin. Ils sont plus gros et plus turgescents quand ils sont jeunes. Au bout de quelques jours, ils se changent en granulins de si petit petit volume que le liquide de culture, laiteux à l'origine, devient ensuite presque limpide. La fig. 108 donne une idée assez exacte des formes et des variations de grosseur. L'intérêt que présente cet être tient à ce qu'il appartient évidemment à un autre monde que celui des vibrions ou des cellules de levure.

Il se rapproche des granulations de faible diamètre, que toutes les observations microscopiques décèlent dans les humeurs virulentes de la vaccine, de la variole, de la clavelée du mouton, du rouget du porc, et nous fait pénétrer dans un monde nouveau où aucune découverte ne peut nous laisser indifférents.



Fig. 108. — *Microbe du choléra des poules.*
Moitié droite. — Articles jeunes et turgescents.
Moitié gauche. — Articles vieux et flétris.

L'inoculation de quelques gouttes d'un liquide où on a cultivé le microbe amène l'apparition de la maladie avec tous ses symptômes. C'est le cas général pour les maladies virulentes. Mais contrairement à ce qui se passe ailleurs, l'inoculation du même liquide filtré sur de la porcelaine dégourdie, et débarrassé de tous ses éléments virulents, n'est pas inoffensive. La poule, après une courte période d'excitation, prend la forme en boule, sans doute par suite d'une contraction tétanique des muscles superficiels, se refuse à manger, et éprouve une tendance au sommeil des plus marquées. On pourrait la croire malade du choléra, si le sommeil n'était pas ici beaucoup plus léger que dans la maladie réelle. La poule, en effet, se réveille au moindre bruit. De plus, cette somnolence est passagère, et se termine par un rétablissement complet.

Nous trouvons là, en action, la différence théorique que nous avons signalée, au commencement de cette étude, entre l'inoculation d'un élément virulent et celle d'une substance toxique, et l'expérience nous montre, en outre, que le microbe du choléra des poules sécrète un narcotique qui entre en solution dans le liquide et peut agir en dehors de lui. C'est le premier exemple d'une substance, douée des mêmes propriétés que certains alcaloïdes végétaux, et attribuable, sans ambages, à une espèce microscopique déterminée.

Pyocyanine. — Enfin, et dans le même ordre de faits et d'idées, nous de-

vons placer ici une substance, certainement produite aussi par un microbe, et jouissant des propriétés des alcaloïdes végétaux, la *pyocyanine*.

On a remarqué depuis longtemps que le pus et la sérosité qui s'écoulent des blessures, et imbibent les linges à pansement, les colorent dans quelques cas d'une couleur bleue dont la teinte rappelle celle d'une solution de sulfate de cuivre. Cette apparition de pyocyanine est même quelquefois épidémique dans une salle d'hôpital. A de certaines époques, il y en a des cas multiples, puis ils deviennent plus rares ou disparaissent.

Il est naturel de rechercher s'ils ne seraient pas le résultat de l'ensemencement plus ou moins spontané d'un microbe dans les liquides organiques, toujours maintenus à bonne température, qui se colorent en bleu. Cette idée qui paraît due à Krembs, a été poursuivie et justifiée par Chalvet, Lucke et divers autres observateurs. Malheureusement il y a dans toutes les sérosités un grand nombre de microbes, et ce qui est difficile, c'est de dire auquel est dû le phénomène étudié.

En reproduisant à volonté la coloration bleue par ensemencement d'un vase dans un autre, on ne démontre qu'une chose, c'est qu'elle est due à un être vivant. Mais pour savoir quel est cet être, il faut l'isoler, le caractériser par une description suffisante, et montrer que transporté seul dans un liquide nutritif, il y ramène la coloration bleue de l'origine.

C'est un point auquel la science n'est pas encore arrivée. M. C. Gessard qui s'en est le plus rapproché, caractérise bien le microbe actif comme formé de petites cellules arrondies, très agiles, et dont le diamètre varie de 1^{μ} à $1^{\mu},5$; elles fourmillent au bord des bulles d'air sous le microscope, ce qui prouve qu'elles sont aérobies : mais rien dans son travail ne témoigne que ces êtres sont seuls présents, et qu'ils ne sont pas seulement les compagnons de l'espèce active, l'ayant accompagnée dans toute la série des cultures. Rien ne nous apprend non plus de quelles substances ils vivent de préférence, s'ils sont des ferments des matières albuminoïdes ou seulement des substances hydrocarbonées, bien que la première hypothèse soit la plus probable.

Cependant, Schroeter a observé en 1870 la production, à la surface de tranches de pommes de terre, de microbes de forme circulaire ou elliptique, produisant des colorations variées. Parmi ces êtres, il y en a un, appelé par Cohn *micrococcus cyaneus*, qui fournit un liquide bleu analogue à celui de la pyocyanine, et là, sur les tranches de pomme de terre cuite, il y a bien des chances pour que l'amidon fût l'aliment consommé. Il y a donc, de ce côté, des recherches à faire, qui montreront sans doute que ces matières colorantes sont, comme l'alcool dans le cas de la levure, des sortes de produits résiduels de l'action des microbes, pouvant se retrouver avec des caractères identiques parmi les résultats de l'action d'un grand nombre d'espèces diverses, de même que l'alcool est un terme auquel s'arrêtent beaucoup d'infiniment petits.

Mais, s'il reste quelques doutes sur la véritable cause de production de la pyocyanine, il n'en reste pas sur le véritable caractère de cette substance depuis le travail de M. Gessard. Elle est assimilable aux alcaloïdes végétaux.

Fordos la sépare en traitant les linges bleuis par de l'eau ammoniacale qu'il agite ensuite avec du chloroforme. Ce liquide entraîne la matière colorante et

les matières grasses. On le sépare, on le filtre et on l'agite avec de l'eau légèrement acidulée par de l'acide sulfurique ou l'acide chlorhydrique. La pyocyanine abandonne le chloroforme et passe dans le liquide à l'état de combinaison saline qu'on décompose par une base. On agite de nouveau avec le chloroforme qui reprend la pyocyanine bleue et l'abandonne après filtration, par évaporation spontanée.

Le chloroforme traité par l'eau acidulée garde en solution une autre substance jaune, qu'on sépare en distillant avec un peu d'eau. Il reste un liquide aqueux que surnagent les matières grasses. On le filtre, et on l'agite avec du chloroforme qui dissout la matière jaune appelée *pyoxanthose*.

La pyocyanine, obtenue par évaporation lente de sa solution chloroformique ou aqueuse, est cristallisée en lamelles, tablettes ou aiguilles bleues. Ses solutions passent au rouge carmin par les acides, avec lesquels elle forme des composés cristallisés en aiguilles, dont la couleur varie du jaune au rouge brun et rappelle celle des cristaux d'hémine. Elle jouit donc de propriétés alcalines. M. Gessard a montré qu'elle ressemblait aux alcaloïdes végétaux. Elle précipite les chlorures d'or et de platine, les iodures doubles de potassium et de cadmium ou de mercure, l'acide phosphomolybdique, les acides tannique et picrique. Elle réduit très nettement le ferricyanure de potassium lorsqu'elle est à l'état de sulfate bien neutre. Toutefois, injectée en poids de 2 milligrammes à un moineau et à un bruant, elle n'a amené chez eux qu'un malaise passager.

De plus, elle est assez instable. Les agents réducteurs, l'hydrogène sulfuré, l'hydrogène naissant la décolorent. Dans les liquides où elle se produit sous l'action des microbes aérobies, elle forme un liseré bleu à la surface supérieure, là où il y a assez d'oxygène. Partout ailleurs à l'intérieur du liquide, elle est décolorée par le milieu réducteur que lui font les microbes, mais elle se recolore à l'air, et il suffit d'agiter le liquide au contact de ce gaz pour le voir se teinter dans toute sa masse.

Non seulement elle peut se réduire, mais encore elle peut s'oxyder. Agitée à l'air en solution fortement alcaline, elle se décolore encore rapidement, et devient alors de la pyoxanthose. Cet effet se produit avec plus de lenteur sur les cristaux abandonnés à l'air, qui prennent une teinte verte due au mélange de la pyocyanine bleue avec la pyoxanthose jaune. On peut les purifier de cette dernière substance au moyen de l'éther qui la dissout beaucoup plus abondamment qu'il ne le fait de la pyocyanine. Mais il vaut mieux préparer directement la pyoxanthose par le procédé de M. Gessard que nous venons d'indiquer; on neutralise l'excès d'alcali dans lequel on l'a produite, et on la reprend par le chloroforme qui l'abandonne par évaporation sous forme cristalline. C'est une substance qui forme avec les acides des combinaisons peu stables. Elle présente les réactions des alcaloïdes végétaux, comme les corps dont elle provient, mais elle est moins basique et peut même se comporter comme acide.

Acides fixes de la putréfaction. — Nous avons terminé l'étude des substances alcalines fixes qu'on rencontre dans les liquides putrides. On sait beaucoup moins de choses sur les substances de nature acide qui peuvent se

former, en dehors des acides volatils que nous connaissons déjà, et de l'acide oxalique, dont j'ai signalé la formation possible aux dépens de la caséine.

Les recherches de MM. Krause et Salomon, Weyl, E. et H. Salkowski, ont prouvé la formation, pendant la putréfaction, d'un grand nombre de produits nouveaux. D'abord de la xanthine, puis de l'hypoxanthine qui devient de la xanthine par oxydation. Comme acides fixes, on a signalé les acides phénylacétique et phénylpropionique. La laine a fourni en outre un acide particulier $C^{16}H^{8}O^{6}$, appartenant à la série aromatique. Cet acide a été également retrouvé par MM. Salkowski dans les produits de la fermentation de la fibrine et de la chair musculaire.

Celle-ci leur a donné une quantité notable d'acide succinique, que Stockly a rencontré aussi dans la putréfaction des cerveaux. Mais pour ce corps, de même que pour l'acide lactique qu'on a souvent signalé, il y a à se demander s'il provient bien de la matière albuminoïde, et s'il n'est pas plus sûr d'en chercher l'origine dans les hydrates de carbone, matières glycogènes ou autres, que renfermaient les matières complexes soumises à la putréfaction.

MM. Salkowski ont constaté aussi la formation, pendant le procès putride, des acides gras les plus élevés dans la série, tels que l'acide palmitique et l'acide oléique. J'ai dit plus haut que je n'avais pu constater rien de pareil avec la caséine, et les observations de Nadina Sieber sont d'accord avec les miennes. Rappelons-nous que la fibre musculaire, comme la levure, renferme des matières grasses que l'éther n'enlève que lorsque la fibre est détruite, et que l'acide palmitique et l'acide oléique peuvent bien provenir des matières grasses laissées dans la chair musculaire.

MM. Gautier et Étard annonçent avoir rencontré aussi, en dehors de l'indol, du scatol et du phénol, dont nous avons parlé au chapitre précédent, de la guanidine qu'on a le droit de considérer comme provenant de la matière azotée.

Enfin, pour être complet, nous devrions maintenant aborder l'étude des produits intermédiaires entre lá matière albuminoïde initiale et ceux que nous venons d'apprendre à connaître. Mais cette série de produits est à peine étudiée, et nous ne trouverions rien de plus général à dire sur elle, que ce que nous en avons appris quand nous avons étudié les transformations que subit la caséine sous l'influence de ses ferments. Quand on n'a pas affaire à des produits volatils ou cristallisables, les réactions auxquelles on peut avoir recours pour distinguer les uns des autres les produits de la putréfaction sont tellement incertaines qu'on ne peut baser sur leur emploi aucune science positive. Il vaut mieux abandonner le sujet, en le bornant à ce que nous savons déjà, et arriver à l'étude de ses ressemblances et ses relations avec les phénomènes normaux de l'organisme. C'est ce que nous ferons aux prochains chapitres.

BIBLIOGRAPHIE

Nencki. — Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Faulniss mit Pankréas.' *Festschrift*. Berne, 1876.

JEANNERET. — Untersuch. über die Zersetzung von Gelatine und Eiweiss. *Inaugural Dissertation*. Leipzig, 1877, et *J. f. Prakt. Chem.*, 1877.

BERGMANN. — *Das putride Gift und die putride Intoxication.* Dorpat, 1866.

BERGMANN et SCHMIEDEBERG. — Ueber das schwefelsaure Sepsin. *Vorlauf. Mitth. in Centralbl. f. medizin. Wissensch.*, 1868, p. 394.

ZULZER et SONNENSCHEIN. — Ueber das Vorkommen eines Alkaloïds in putriden Flüssigkeiten. *Berl. Klin. Wochenschrift*, 1869, p. 121.

PANUM. — Das putride Gift, die Bacterien, die putride Infection oder Intoxication, und die Septicämie. *Virchow's Archiv.* Bd 60, p. 328.

SELMI. — *Sulle ptomaïne od alcaloïdi cadaverici.* Bologna, 1878.

GAUTIER. — Traité de chimie physiologique. Paris 1873.

GAUTIER. — *Bulletin de l'Académie de médecine*, 1882.

GAUTIER et ÉTARD. — Sur le mécanisme de la fermentation putride des matières protéiques. *Comptes rendus*, 24 avril et 12 juin 1882.

SELMI. — *Alti della R. Accad. dei Lincei*, 3e série, t. II, 1878.

KRAUSE et SALOMON. — *Berichte der Deutsch. chem. Gesell.*, t. XII, p. 95.

WEYL. — *Id.*, p. 534, 1879.

T. et H. SALKOWSKI. — Même volume, p. 648.

WALCHLI. — Ueber die Faulniss des Elastin und Mucin. *J. für prakt. Chemie*, t. XVII, 1878.

NADINA SIEBER. — *Neues Handwörterbuch der Chemie*, t. II, p. 2173.

C. GESSARD. — De la pyocynanine et de son microbe. Paris 1882.

CHAPITRE LXIX

RESSEMBLANCES ENTRE LES PHÉNOMÈNES DE PUTRÉFACTION ET LES PHÉNOMÈNES NORMAUX DE L'ORGANISME

L'idée qui domine ce livre est celle de l'identité foncière des phénomènes vitaux dans les cellules des infiniments petits et dans celles qui, agrégées en tissus divers, sous des formes et en proportions diverses, constituent l'organisme des animaux supérieurs. Nous avons rencontré cette identité partout où nos connaissances étaient assez complètes pour nous permettre de la rechercher. Mais ces cas ont été rares, parce que la science qui nous les fournit en est encore à ses débuts, et il pourrait rester quelques doutes sur ce point capital, si l'étude que nous venons de faire des produits de la putréfaction ne nous fournissait une confirmation précieuse de nos premières vues sur ce sujet.

Nous avons fait exception, à propos de la putréfaction, à la loi que nous nous étions imposée de ne parler des diverses transformations que peut éprouver une matière organique, que lorsque nous pouvions dire en quoi elles se résumaient au point de vue chimique, et quel était l'être chargé de les opérer. C'est que de la multitude des documents accumulés sur cette matière, il y avait un enseignement à tirer.

On peut admettre que dans le nombre déjà très grand des putréfactions dont on a étudié les produits, il est intervenu une multitude de cellules diverses douées certainement de propriétés très différentes, qu'il aurait été très utile, nous l'avons dit, de séparer les unes des autres, mais dont l'ensemble représente assez bien la population entière du monde des infiniments petits. On peut admettre aussi que tous les phénomènes possibles dans ce monde se sont produits dans les milliers d'expériences où divers de ses habitants sont intervenus. Tous n'ont pas été aperçus. Les produits de beaucoup d'entre eux sont encore cachés dans ces résidus d'expérience, dans ces matières extractives que chaque observateur abandonne lorsqu'il ne peut plus y rien découvrir, et d'où un observateur plus habile ou plus heureux fait ensuite sortir des choses nouvelles. Mais si nous bornons notre étude à ceux que nous connaissons bien, nous voyons que l'impossibilité où nous sommes d'attribuer chacun d'eux à une espèce spéciale, ne nous empêche pas d'envisager leur ensemble comme caractéristique du mode général de vie cellulaire dans le monde des infiniments petits.

D'un autre côté, le mode particulier d'existence des diverses cellules ou des divers groupes de cellules de l'organisme ne nous est pas encore bien connu. On voit même, et nous avons déjà insisté là-dessus, qu'à raison des connexions mutuelles de ces cellules les unes avec les autres, des répercussions et des décompositions de forces qui se produisent dans ce mécanisme compliqué et délicat, les propriétés individuelles des cellules sont moins faciles à mettre en évidence que dans le monde des microbes, où les individus sont autonomes, et où on est plus maître des conditions de nutrition.

Mais ici encore, bien que les produits de la vie des diverses cellules ne nous soient pas connus, bien que quelques-uns d'entre eux, emportés par ce grand mouvement de liquides et de gaz qui féconde l'organisme, se rencontrent quelquefois loin du lieu de production, il n'en est pas moins vrai que l'ensemble des produits auxquels on pourra assigner une origine vitale, pourra aussi servir à caractériser le mode général de vie cellulaire dans l'organisme des animaux et des végétaux supérieurs.

Si donc l'idée que nous poursuivons est exacte, nous devons retrouver dans les produits de l'organisme des êtres supérieurs les substances diverses que nous savons se former dans les phénomènes de putréfaction. Voyons donc si cette conclusion est confirmée par l'expérience. Si elle l'est, il en résultera des notions nouvelles sur le mode de formation de ces diverses substances dans les tissus des animaux et des végétaux.

Nous commencerons par les gaz, et nous n'insisterons pas sur ce fait que, dans les deux mondes, l'oxygène est nécessaire à la vie des cellules. C'est ce gaz qui est la source de la force et de la vie, et nous savons que même chez les anaérobies dans le monde des ferments, il y a des besoins d'oxygène, et que ces êtres ne diffèrent des autres qu'en ce qu'il peuvent emprunter ce gaz à des sources spéciales, fermées pour les cellules aérobies.

Acide carbonique. — Je n'insisterai pas beaucoup non plus sur l'acide carbonique. Je veux seulement faire remarquer que l'assimilation que nous cherchons à établir entre les phénomènes de la vie de toutes les cellules nous conduit à renoncer, à propos de l'acide carbonique, non seulement à l'idée de cette combustion directe dans le poumon, à laquelle s'étaient arrêtés les premiers physiologistes, mais aussi à cette idée de combustion dans les vaisseaux capillaires qui trouve encore souvent créance aujourd'hui. C'est dans l'intimité de la cellule que l'acide carbonique est produit. La cellule de levure absorbe du sucre dans son protoplasma, c'est dans ce protoplasma qu'elle le digère et qu'elle fabrique l'acide carbonique qui en sort ensuite par voie de diffusion. C'est de même dans les profondeurs des tissus que se fait l'acide carbonique que nous exhalons. Le sang a pour rôle d'apporter l'oxygène sous un état sous lequel les tissus puissent l'absorber. Quand ils en ont à leur disposition, ces tissus l'emmagasinent comme je l'ai montré pour les œufs de ver à soie, comme cela a été montré depuis pour l'organisme, et sans doute par un mécanisme analogue à celui que nous avons trouvé dans la cellule de levure emmagasinant aussi l'oxygène de l'air. Cet oxygène est employé là à des combustions intérieures, et pendant que la cellule renouvelle d'un côté ses réserves aux dépens du sang,

elle rend, de l'autre, à ce sang, l'acide carbonique qu'elle a produit, et dont l'accumulation gênerait son fonctionnement ultérieur.

Dans un organisme en bon état, l'absorption d'oxygène et l'exhalation d'acide carbonique doivent s'équilibrer à peu près et marcher du même pas, mais il n'y a nulle raison de supposer qu'elles doivent marcher parallèlement. Il est donc toujours un peu illusoire de comparer le volume d'oxygène absorbé et le volume d'acide carbonique exhalé, soit à chaque inspiration, soit même pendant une courte période de la vie de l'animal. On n'a pas affaire ici à un phénomène de combustion directe, comme celle du carbone à l'air, et deux choses s'opposent à ce que le parallélisme existe, d'abord l'existence des réserves que nous avons signalées, en second lieu les variations possibles dans le mode d'utilisation de l'oxygène par les diverses cellules.

Rappelons-nous en effet, que les cellules de levure et, en général, toutes celles que nous connaissons bien, peuvent, en restant dans leurs limites physiologiques d'existence, employer très diversement l'oxygène qu'elles ont à leur disposition, ou pour serrer de plus près les faits, donner des proportions d'acide carbonique très variables pour la même quantité d'oxygène absorbé. Sans doute, les cellules de l'organisme n'ont pas, à ce point de vue, l'élasticité curieuse des cellules de levure, mais en réduisant beaucoup la grandeur des phénomènes dont celles-ci peuvent nous rendre témoins, il en reste assez pour modifier beaucoup le rapport de l'oxygène absorbé à l'acide carbonique produit dans les actes respiratoires. Qu'une influence quelconque, nerveuse, traumatique, modifie la circulation du sang dans un organe, le jeu des combustions pourra y devenir tout autre pendant un temps plus ou moins long, et se traduire, dans la résultante générale, par des variations comme celles qu'on a eu souvent l'occasion d'observer, sans toujours pouvoir en trouver la véritable cause.

Azote.— Il n'est guère de question plus controversée que celle de l'exhalation d'azote pendant la respiration, et il ne sera pas inutile, pour l'objet que nous avons en vue, d'en faire une courte revue historique.

Spallanzani a le premier noté que l'air inspiré renfermait un peu moins d'azote que l'air expiré. Les procédés eudiométriques étaient alors trop imparfaits pour que cette conclusion fût bien solide; mais Davy en 1800 et Provençal en 1809, étaient arrivés au même résultat. Plus tard, Berthollet (1809), Nysten (1811). Dulong (1823), Despretz (1824), avaient trouvé des différences en sens contraires, et les résultats antérieurs, peu nombreux d'ailleurs, furent attribués à des erreurs d'expérience.

C'est à MM. Regnault et Reiset qu'on doit d'avoir montré que l'exhalation d'une petite quantité d'azote est la règle, mais n'est pas une règle sans exception. Il suffit de faire jeûner les animaux pour noter, d'ordinaire, une petite diminution dans la proportion d'azote de l'air expiré. L'effet est explicable en admettant que l'inanition diminue la proportion de l'azote dans le sang. Ce liquide, en vertu des lois de solubilité des gaz, en emprunte alors davantage à l'air atmosphérique.

L'origine de l'excédant d'azote, qui est la règle générale, devait naturellement être recherché dans les aliments. Cependant MM. Voit et Pettenkofer ont nié, à

la suite de leurs expériences, la possibilité du dégagement de l'azote gazeux aux dépens de la matière alimentaire, et prétendent retrouver dans l'urine et les excréments la totalité de l'azote résultant de la décomposition des matières albuminoïdes dans l'organisme.

A l'aide d'un appareil nouveau, entièrement fait de verre ou de métal, et dans lequel ils se sont appliqués à faire disparaître les imperfections qu'ils reprochaient à celui de Voit et Pettenkofer. MM. Seegen et Nowak trouvent qu'il y a de l'azote gazeux expiré par tous les animaux, en proportion du poids de l'animal et de la durée de l'expérienee. Le poids d'azote expiré par jour et par kilogramme du poids de l'animal est faible, il varie de 5 à 9 milligrammes, et les pertes d'azote provenant de cette voie n'ont jamais dépassé 5 grammes dans les divers essais. N'oublions pas ces nombres qui ont leur importance..

De nouvelles expériences de Gruber sont venues à leur tour combattre les conclusions de MM. Seegen et Nowak. MM. Voit et Pettenkofer les ont attribuées d'un autre eôté à des erreurs d'expériences, à des pénétrations accidentelles d'air dans les gazomètres, à l'existence d'un peu d'azote dans l'oxygène, préparé par MM. Seegen et Nowak au moyen du chlorate de potasse mélangé d'un peu de bioxyde de manganèse.

La question, très controversée, n'est donc pas encore résolue. Il peut se faire en effet que tout le monde ait raison. Il suffit pour s'en convaincre, de se rappeler que la putréfaction que nous savons s'accomplir dans le canal intestinal, aux dépens de la matière alimentaire, peut dans certains cas s'accompagner d'un dégagement d'azote, et que ce gaz formé dans l'intestin doit nécessairement passer dans le sang, et de là dans les gaz expirés. Les quantités d'azote qui peuvent se former dans ces conditions ne sont pas hors de proportion avec celles dont MM. Seegen et Nowak ont constaté l'excrétion dans leurs expériences. D'un autre côté, toutes les putréfactions ne dégagent pas de l'azote et ce gaz peut quelquefois manquer, ce qui peut expliquer les résultats eontradictoires. De plus, on s'explique aussi comment il doit manquer ehez les animaux inanitiés. Enfin l'absorption d'azote observée ehez ees animaux ne serait pas nécessairement due à une utilisation de ce gaz dans l'organisme. On peut se l'expliquer en faisant intervenir les lois de dissolution des gaz. Si dans l'état normal, le sang sert à l'exhalation de l'azote, il faut que les conditions physico-chimiques qui président à l'éehange des gaz sur les surfaces pulmonaires se résument en un certain état d'équilibre entre la proportion d'azote de l'air et eelle du sang. Si celle-ci passe au-dessous de la normale, à laquelle correspond l'état d'équilibre, cet état peut être détruit à son profit, et il y a absorption au lieu de résorption, et cela tant que la masse du sang n'est pas saturée. On calcule assez facilement que la quantité d'azote nécessaire pour cela est assez bien d'aceord avec les expériences de Regnault et Reiset.

Hydrogène. — Nous allons reneontrer des conclusions analogues à propos de l'hydrogène. La portion d'oxygène absorbé qui ne se trouve pas dans l'acide earbonique exhalé, est considérée, et à juste titre, comme servant à brûler de l'hydrogène dans l'organisme et à produire de la vapeur d'eau. C'est le même phénomène que celui que nous avons étudié chez une foule de ferments, employant

aussi l'oxygène à brûler le carbone et l'hydrogène de leur matière alimentaire. Mais nous savons qu'il y a aussi des cellules anaérobies capables de dégager l'hydrogène à l'état gazeux. Peut-être l'organisme en contient-il de pareilles. S'il n'y en a pas dans les tissus normaux, il est au moins sûr qu'il en existe dans l'intestin, où nous verrons que le gaz hydrogène est fréquemment présent. Il doit donc aussi passer par diffusion dans le sang, et de là dans les produits expirés. Pettenkofer a en effet observé la présence de l'hydrogène dans l'air expiré fourni par un chien nourri avec du sucre et de la viande. Une question intéressante, mais qui, d'après ce qui précède, n'est pas facile à étudier, consisterait à savoir s'il peut y avoir de l'hydrogène provenant des cellules normales de l'organisme, en dehors de celui que la masse intestinale verse constamment dans le sang.

Hydrogène sulfuré et hydrogène protocarboné. — Regnault a trouvé des traces très faibles de ces deux gaz dans les produits de la respiration. Pettenkofer a rencontré le gaz des marais, en même temps que l'hydrogène, dans l'atmosphère entourant un chien soumis à une alimentation composée de viande et de sucre ou d'amidon. Il ne paraît pas douteux que ces gaz ne proviennent, pour la plus grande partie, de la masse intestinale, mais, encore ici, il serait intéressant de savoir si l'organisme peut en produire dans certaines conditions physiologiques ou pathologiques.

Ammoniaque. — Il reste encore quelque incertitude sur la question de la formation physiologique de l'ammoniaque dans l'organisme. Thiry, Kuhne et Strauch, Davy, Lossen ont constamment trouvé, dans l'air expiré par l'homme et les animaux, des traces de carbonate d'ammoniaque. D'un autre côté Reuling prétend qu'il n'y en a pas dans l'air expiré plus que dans l'air inspiré. Heyward n'en a pas non plus rencontré dans l'air expiré, mais en a trouvé dans la salive. Un peu de ce liquide, additionné d'une petite quantité de magnésie récemment calcinée, est placée dans le fond d'un tube le long duquel on fait descendre une bande de papier humectée avec du réactif de Nessler. Au bout de quelques minutes, à 30°, on voit se produire la réaction de l'ammoniaque. Ce corps est surtout abondant dans la salive parotidienne et sous-maxillaire, et sa quantité varie de 30 à 100 milligrammes par litre.

Ces chiffres ne permettent pas de croire que l'ammoniaque observée provienne de la décomposition d'une petite quantité d'urée. Mais nous verrons, au chapitre prochain, que la salive est fréquemment peuplée de microbes auxquels on a le droit de rapporter la formation de l'ammoniaque observée.

MM. Thiry, Kuhne et Strauch, et depuis M. Brucke et M. Lange ont constaté, à l'aide du même réactif, des traces d'ammoniaque dans le sang. Brucke en a aussi retrouvé dans la salive, l'albumine fraîche de l'œuf, et l'urine acide, immédiatement après son excrétion. Mais l'urée, dans les conditions de l'expérience, donne aussi un peu d'ammoniaque, et il y a de l'urée dans tous les liquides étudiés.

D'un autre côté, les putréfactions dans le canal intestinal y amènent certainement là formation de sels ammoniacaux que le sang doit emporter partout. La

découverte certaine de l'ammoniaque dans différents tissus n'aurait donc rien de surprenant. Mais il ne semble pas douteux, d'autre part, que les cellules normales de l'organisme ne s'arrêtent de préférence au terme urée dans la série des dédoublements auxquels elles soumettent la matière alimentaire pour elles, et que par conséquent la formation de sels ammoniacaux, qui est le cas général pour les microbes, ferments des matières albuminoïdes, ne constitue l'exception pour les cellules des tissus.

Acide nitrique. — Il y a longtemps que l'on a démontré l'existence des nitrates dans les plantes, ou leur présence n'a rien de surprenant puisque le sol en renferme. Mais on a le droit de douter que tous les nitrates qu'on rencontre dans les végétaux, proviennent du sol quand on voit quelles proportions il y en a quelquefois. M. Boutin a montré que l'*amarantus ruber*, desséché à 100° contient 16 pour 100 de nitre, l'*amarantus atropurpureus*, 22,77 p. 100. Il est probable qu'il y a dans ces plantes création de nitrates, comme sous l'influence du ferment nitrificateur.

Acides gras. — En suivant le même ordre que lorsque nous avons étudié les produits de la putréfaction, nous rencontrons les acides gras. Ceux-ci ne sont pas diffusibles au même degré que les gaz, et quand on les trouve dans un organe, on peut admettre que c'est là qu'ils ont été formés. Or, l'expérience prouve qu'on rencontre à l'état libre ou combiné presque tous les termes de la série grasse.

L'acide formique existe dans la sueur, le tissu de la rate, du pancréas, du thymus, dans le suc musculaire, dans la masse cérébrale et enfin dans les urines.

L'acide acétique se rencontre aussi dans les liquides des organes glandulaires, et dans le sang des animaux nourris avec addition de spiritueux à leurs aliments ordinaires.

Chose singulière, l'acide propionique que nous n'avons pas rencontré dans les produits de la putréfaction, n'a pas été trouvé non plus parmi les produits normaux de l'économie animale. Cependant M. Schottin l'a trouvé dans la sueur.

L'acide butyrique est, au contraire, fréquemment présent. On le rencontre à l'état libre dans la sueur, et à l'état combiné dans les glandes, les muscles, et rarement dans les urines.

Les acides de degrés supérieurs sont plus rares. Ils existent cependant sans doute dans la sueur ou le sang. La sueur possède souvent une odeur analogue à celle des acides valérianique et caproïque. On retrouve ces mêmes odeurs dans le sang de beaucoup de mammifères, lorsqu'on le chauffe avec un peu d'acide sulfurique.

Ces acides gras volatils sont donc assez généralement, sinon assez abondamment répandus. On les a longtemps envisagés comme résultant de la transformation digestive des matériaux hydrocarbonés de l'alimentation, et comme ayant été transportés par la circulation aux lieux où on les rencontrait. Il est inutile de chercher aussi loin leur origine et le secret de leur formation, depuis

que nous savons que les sels qu'ils forment avec l'ammoniaque peuvent prendre naissance dans la cellule elle-même, aux dépens de la matière albuminoïde qui lui sert d'aliment. Ce sont des produits de la vie physiologique de certaines cellules au même titre que l'acide carbonique, ou, du moins, rien n'autorise à leur faire une place à part ou à aller chercher leur origine ailleurs.

Acides fixes. — Les trois isomères de l'acide lactique sont très répandus dans l'économie animale. On les rencontre, en dehors de l'intestin, dans le suc musculaire de l'homme, des mammifères et de quelques poissons, dans les tissus de la rate, du foie, du pancréas, du thymus, de la glande thyroïde, des poumons, du cerveau, dans la bile du bœuf, dans le liquide allantoïdien de la vache, dans les urines du cheval. L'acide lactique de fermentation apparaît de préférence dans certains états pathologiques.

Cet acide lactique se forme certainement beaucoup plus facilement dans les phénomènes de fermentation aux dépens des matériaux hydrocarbonés que des matières albuminoïdes. Il est donc possible qu'il en soit de même dans l'organisme, et qu'il y provienne du dédoublement des matériaux hydrocarbonés qui y sont répandus avec parcimonie en divers points. Mais rien n'autorise à croire, non plus, que cet acide lactique ne puisse pas être aussi un produit de la transformation de la matière azotée.

L'acide succinique existe dans les sucs parenchymateux de la rate, de la glande thyroïde et du thymus, dans les échinocoques du foie. On le rencontre aussi dans l'urine de l'homme à la suite d'un repas d'asperges, dans l'urine des lapins à la suite d'un repas composé d'un mélange de raves, et de foin ou de son.

L'acide oxalique se rencontre aussi dans l'urine, dans les calculs muraux de la vessie ou des reins, dans les mucosités de la vésicule biliaire, sur la membrane de l'utérus en gestation. Il existe surtout à l'état d'oxalate de chaux.

Ces deux acides peuvent provenir tout aussi facilement de la métamorphose des éléments hydrocarbonés que des matériaux azotés des tissus. L'acide oxalique est plus intéressant au point de vue physiologique, en ce qu'il peut provenir du dédoublement de l'acide urique en urée, acide oxalique et allantoïne. Il en est au moins ainsi dans les laboratoires, il semble en être de même dans les tissus vivants. Zabelin a montré que l'addition d'acide urique à la nourriture d'un chien augmentait constamment la proportion d'urée dans l'urine de cet animal. L'acide oxalique et l'allantoïne n'apparaissaient pas, il est vrai, en plus grande abondance, sans doute parce qu'ils étaient brûlés, tandis que les cellules de l'organisme semblent s'arrêter, comme nous l'avons dit, devant le terme urée.

D'un autre côté, les expériences de MM. Wohler et Frerichs ont prouvé que l'injection d'urates dans les veines faisait apparaître dans l'urine un excès d'oxalate de chaux. La formation de ce sel semble donc pouvoir être étroitement liée à la transformation de l'acide urique. Rappelons-nous pourtant que nous avons trouvé l'oxalate de chaux parmi les produits de la destruction de la matière albuminoïde, dans des conditions où rien ne nous conduisait à supposer en action un mécanisme aussi compliqué que celui d'une formation préliminaire d'acide urique.

Urée. — L'urée est certainement le produit le plus caractéristique de l'organisme, et c'est pour cela qu'il a été intéressant de la retrouver dans le monde des infiniment petits. Nous savons que tous n'en produisent pas, et qu'elle est elle-même alimentaire pour certaines espèces d'êtres. Elle se présente, par conséquent, à nous, dans l'histoire des microbes, avec les mêmes caractères que l'alcool, l'acide butyrique ou l'un quelconque des produits de l'action des ferments. Nous pourrions partir de là, pour lui dénier le rôle de produit de métamorphose régressive des tissus qu'on lui accorde d'ordinaire, mais la question est trop importante pour être traitée en passant, et pour la traiter à fond, il nous faudrait sortir de notre domaine. Contentons nous de dire qu'une discussion soigneuse des faits connus, conduit à abandonner l'opinion régnante à ce sujet.

Avec l'urée, l'indécision dans laquelle nous avons été obligés de laisser tout à l'heure la question de l'origine des acides gras n'existe plus, et elle est incontestablement, de même que tous les corps que nous allons rencontrer maintenant, un produit de la transformation de la matière azotée.

Glycocolle. — Le glycocolle, assez fréquent dans les phénomènes de putréfaction, est rare dans l'organisme. Il n'a encore été trouvé que dans une espèce de moule comestible. Sans vouloir affirmer qu'il n'existe pas ailleurs, il y a pourtant à remarquer à son sujet trois faits dont la concomitance n'est sans doute pas un effet du hasard. Le premier est que la moule renferme surtout, comme substances albuminoïdes, des matières analogues à la gélatine; le second est que la gélatine en se putréfiant donne surtout du glycocolle, tandis que les matières albuminoïdes vraies donnent surtout de la leucine et de la tyrosine; le troisième c'est que le glycocolle est rare dans les êtres supérieurs où la gélatine est rare aussi. Il y a là un groupement de faits qu'il était bon de signaler.

Leucine. — La leucine se rencontre, associée à la butalanine dans le tissu du pancréas. Elle existe en grande quantité dans la rate, dans le thymus, dans la glande thyroïde, dans les glandes parotide et sous-maxillaire, dans les poumons. Elle est en petites proportions dans le foie à l'état normal; on la rencontre aussi dans les reins, la masse cérébrale du bœuf et dans les glandes lymphatiques.

Le sang normal et le suc musculaire normal n'en renferment pas, mais l'apparition en est fréquente dans diverses maladies. Le pus en contient quelquefois beaucoup. Cette diffusion est évidemment en rapport avec son apparition fréquente dans les phénomènes de putréfaction.

M. Gorup Bésanez a trouvé aussi de la leucine dans les graines de vesces germées dans l'obscurité. Elle s'y accompagne d'asparagine. Le jus de betteraves en renferme aussi.

Tyrosine. — Il en est à peu près de même de la tyrosine ; on la rencontre dans la rate, le pancréas, le foie à l'état normal. Elle apparaît aussi plus fréquente dans certains états pathologiques. On la rencontre dans la bile des typhiques, dans les produits d'expectoration du croup, dans les dépôts urinaires;

associée à la leucine, à la suite d'atrophie aigue du foie, bref, toutes les fois qu'il y a une cause plus puissante de destruction des tissus de l'organisme.

Les végétaux renferment aussi de la tyrosine. On en trouve, d'après E. Schulze, avec de la leucine, dans le jus de betteraves. Il y a aussi, dans ce jus, un acide que sa constitution rapproche beaucoup de la leucine, et qui est sans doute l'acide phénylamidopropionique. Enfin ce même jus, bouilli avec de l'acide chlorhydrique, a donné de l'acide glutamique, ce qui semble y démontrer l'existence de la glutamine. On voit que les phénomènes de la vie sont les mêmes chez les animaux et chez les végétaux.

Guanine. — La guanine se rencontre dans le pancréas et le foie, les écailles irisées et la vessie natatoire des poissons, le liquide spermatique du saumon. M. Pecile a trouvé 0gr,0068 de guanine et 0,0034 de xanthine dans 100 grammes d'urine de cochon nourri avec du son et visiblement intoxiqué. L'urine du même animal, en bon état de santé, n'en renfermait pas trace.

Hypoxanthine. — L'hypoxanthine a été trouvée dans la chair musculaire et le cœur du cheval et du bœuf, dans la rate du bœuf, le thymus du veau. M. Salomon en a trouvé à l'état normal dans la moelle des os humains, le foie, la rate, le pancréas, ainsi que dans le sang de tous les cadavres. Il n'y en a pas dans le sang frais, sans doute parce qu'elle y est oxydée et détruite.

M. Kossel en a dosé la quantité dans divers tissus. Voici les nombres qu'il a trouvés par kilogramme :

Rate (homme)	0gr,096
Rate (chien)	0 ,096
Rein (homme)	0 ,068
Rein (chien)	0 ,053
Foie (chien)	0 ,082
Muscles (enfant)	0 ,048
Cœur (homme)	0 ,039
Cerveau (homme), matière blanche	0 ,029
— matière grise	0 ,024

Il y a toujours, comme pour les substances qui précédent, une prédominance pour les organes glandulaires ; mais on voit que l'hypoxanthine est en quelque sorte un produit normal des tissus vivants.

Xanthine. — La xanthine est un produit plus oxydé que l'hypoxanthine et la guanine, et précède immédiatement l'acide urique dans l'échelle régulière d'oxydation. Il est vrai qu'on n'a pas encore réussi à transformer la xanthine en acide urique, mais il est difficile de croire que cette transformation ne se fasse pas facilement dans l'organisme quand on voit la xanthine exister dans les calculs urinaires, et la xanthine, l'hypoxanthine et l'acide urique s'accompagner dans les dépôts urinaires. La xanthine se rencontre du reste aussi dans les organes glandulaires et la chair musculaire des mammifères et des poissons.

Les végétaux en renferment aussi. Sur cent parties de lupin en germination, M. Salomon a trouvé 0gr,2 de composés xanthiques, formés surtout

d'hypoxanthine et de xanthine sans acide urique. Le lupin n'en renferme il est vrai que lorsqu'il est en germination, c'est-à-dire pendant la période de végétation où il ressemble le plus aux cellules de ferment, par la consommation qu'il fait d'aliments tout préparés. Notons du reste que la décomposition des albuminoïdes se fait dans les plantes comme chez les animaux, avec formation de leucine et de tyrosine, et aussi de glutamine et d'acide aspartique.

Alcaloïdes vénéneux. — Nous allons enfin, pour terminer notre comparaison entre les produits de la putréfaction et les produits normaux de l'organisme, retrouver des composés toxiques dans les tissus vivants et à l'état sain.

Nous savons du reste que ces alcaloïdes vénéneux sont fabriqués dans des conditions parfaitement physiologiques par les organes de certains végétaux. MM. Ritter et Schlagdenhauffen en 1874 et M. Paterno en 1875 paraissent avoir les premiers fait la remarque que le procédé de Stas, appliqué à l'étude de végétaux non producteurs d'alcaloïdes, pouvait pourtant permettre d'en retirer de petites quantités de corps ayant des réactions analogues à celle des alcaloïdes, mais dont ils ne semblent pas avoir étudié le caractère toxique.

Un fait de beaucoup plus intéressant a été publié en 1880 par M. Spica, qui, en traitant les liquides retirés de l'abdomen d'une femme affectée de grossesse extra-utérine, y avait trouvé des alcaloïdes semblables à ceux que Selmi découvrait à ce moment dans les liquides de putréfaction.

M. G. Pouchet rencontra cette même année dans l'urine un alcaloïde très oxydable, à chloraurate et chloroplatinate bien cristallisés et déliquescents, très toxique, stupéfiant et tétanisant les animaux, et les tuant avec le cœur en systole. M. A. Gautier s'assura que cet alcaloïde avait les propriétés principales des alcaloïdes cadavériques, et réduisait le ferricyanure de potassium instantanément, de façon à produire, par addition de sels ferriques, un dépôt de bleu de Prusse.

On pouvait encore dire, à propos de cette constatation, que l'urine, chargée d'entraîner hors de l'organisme les produits fâcheux, inertes ou usés, avait pu n'être que l'émonctoire d'un produit formé dans la masse putride du canal intestinal. Mais M. Gautier a retrouvé depuis dans la salive humaine normale une substance, toxique au moins pour les oiseaux, qu'elle stupéfie profondément, et dont l'activité résiste à l'ébullition, ce qui prouve qu'elle n'est ni un ferment ni une diastase. Il a retiré de l'extrait salivaire, en quantité variable suivant la nature de la salive, un alcaloïde à chloraurate et chloroplatinate solubles, cristallisables et fort altérables, réduisant le ferricyanure de potassium.

Le venin de certains serpents paraît renfermer des substances analogues. M. Gautier a retiré du venin de trigonocéphale, et surtout de celui du naja de l'Inde, deux matières alcaloïdiques, stupéfiantes, et donnant des précipités avec les réactifs généraux des alcaloïdes.

Enfin, et ce qui fait disparaître les derniers doutes qui pourraient provenir de l'existence constante de microbes dans la salive, M. Gautier a retrouvé ces mêmes produits dans le sperme, et MM. Paterno et Spica ont de même décelé dans le sang normal et dans l'albumine des substances évidemment de la même famille, mais dont ils n'ont pourtant pas essayé les propriétés toxiques.

Tous ces résultats suffisent évidemment pour montrer qu'il n'y a aucune barrière à mettre entre les produits normaux de l'organisme et ceux de la putréfaction, et qu'ils ne sont tous, dans un cas comme dans l'autre, que les résultats de la vie cellulaire. Cette vie s'exerce suivant des modes différents, se traduit par des manifestations diverses, mais certains des produits auxquels elle aboutit sont les mêmes, qu'il s'agisse du monde des animaux supérieurs ou de celui des infiniment petits.

BIBLIOGRAPHIE

Regnault et Reiset. — *Comptes rendus*, t. XXXI.
Valentin. — *Archiv. f. phys. Heilk.*, t. XXII, p. 356.
Pettenkofer. — *Münch. akad. Sitzungsber.*, 1862, t. II, p. 162.
Seegen et Nowak. — *Pflügers Archiv. f. Phys.*, t. 19, p. 347.
Gruber. — *Zeitschrift für Biologie*, t. 16, p. 367.
Pettenkofer et Voit. — *Biederm. Centralbl.*, 1881.
Reuling. — *Sur la quantité d'ammoniaque contenue dans l'air expiré.* Giessen, 1874.
Thiry. — *Zeitschr. f. rationn. Medizin*, XVII, p. 166.
Davy. — *Edimb. New Philosoph. Journal.*, XIX, 1864.
Kuhne et Strauch. — *Centralbl. fur medizin. Wissensch.*, 1864, p. 561.
Lossen. — *Zeitsch. für Biologie*, I, p. 207.
Brucke. — L'ammoniaque dans le sang. *Sitz. der Wien. Akad.*, 1868.
Lange. — Ueber den Ammoniak. Gehalt d. Expirations Luft. *Dissert.* Dorpat, 1874.
H. Heyward. — Ammoniaque dans la salive humaine. *Chem. news*, t. 44, p. 208.
Frerichs et Wohler. — *Ann. der Chem. und Pharm.*, LXV, p. 335.
A. Boutin. — Sur la présence d'une proportion considérable de nitre dans deux variétés d'amaranthus. *Comptes rendus*, t. LXXVIII, p. 261.
Gorup Bésanez. — Sur la présence de leucine, à côté de l'asparagine dans les graines de vesce. *Deutsch. Chem. Gesell.*, t. VII, p. 146.
Pecile. — *Ann. der Chem. und Pharm.*, 1876.
Salomon. — *Verhandl. d. Phys. Gesell. zu Berlin*, 1877.
E. Schulze. — Matériaux azotés des plantes, *Chem. Centralbl.*, 1882, p. 89.
Kossel. — Distribution de l'hypoxanthine dans le règne végétal et animal. *Chem. Centralbl.* 1881, p. 486.
Salomon. — Formation de corps xanthiques dans les plantes en germination. — *Biedermann's Centralbl.*, 1882, p. 356.
Ritter et Schlagdenhauffen. — *Revue médicale de l'Est*, 1874.
Pateano. — *Gazzetta chimica*, t. V, p. 350.
Spica. — *Gazzetta chimica*, t. X, p. 492.
G. Pouchet. — *Thèse inaugurale*, 1880.
A. Gautier. — *Bull. de l'Ac. de méd.*, 1880, 1881 et 1882.
Paterno et Spica. — *Recherches sur la formation des ptomaïnes*, 1882.

CHAPITRE LXX

PUTRÉFACTION ET DIGESTION

L'étude de la digestion n'entre pas dans le cadre de ce livre. Elle est plus naturellement du domaine de la chimie physiologique. J'en ai pourtant dit quelques mots à propos des diastases qui y interviennent, quand j'ai montré que ces diastases étaient identiques à celles qu'on rencontre dans le monde des infiniment petits. Je dois y revenir maintenant, car les pas nouveaux que nous avons faits depuis nous conduisent à une question que nous devons essayer de résoudre.

Nous avons vu en effet que le canal digestif des animaux, quels qu'ils soient, est rempli d'êtres en activité de service, vivant aux dépens des matériaux nutritifs qui y sont accumulés et y amenant des transformations de même nature que celles qui résultent du fonctionnement régulier des cellules normales de l'organisme; de sorte que, si l'on appelle digestion les phénomènes qui s'accomplissent dans ce travail de nutrition, il y a, en réalité, digestion dans toutes les cellules vivantes, en quelque point du corps qu'on les envisage. Si d'un autre côté on voit dans la digestion l'élaboration préalable de substances nutritives au moyen des aliments, et si on la déclare terminée au moment où ces substances quittent l'intestin, emportées par le courant général qui en sort, on peut se demander quel est le rôle que jouent dans le phénomène les êtres qui remplissent le canal intestinal. Où est la limite entre la digestion et la putréfaction?

La solution théorique de cette question, qui a été longtemps controversée, est facile à donner maintenant. On peut admettre que le rôle des liquides digestifs qui débouchent dans le canal intestinal est terminé, lorsque les matériaux qu'ils imbibent ont pris une forme telle qu'ils puissent être absorbés par les vaisseaux chylifères, lymphatiques ou autres, qui puisent constamment à la surface intérieure de l'intestin tout ce qu'ils trouvent à leur convenance.

Il paraît difficile d'appeler cette opération préparatoire d'un autre mot que de celui de digestion, puisqu'elle s'accomplit dans le canal digestif. Il importe pourtant de remarquer tout de suite que si les matières puisées dans l'estomac ou l'intestin peuvent être dites digérées, elles n'en sont pas pour cela nécessairement assimilables. Cette qualité, que quelques-unes possèdent de suite, par exemple le glucose, n'est conférée à d'autres, le sucre candi, l'albumine

crue, peut-être même les peptones, qu'au prix d'un passage au travers du foie. Du moins, M. Hofmeister a montré récemment que les peptones, injectées directement dans le sang, donnent des symptomes d'empoisonnement et passent presque entièrement par les reins dans l'urine, comme le sucre candi et l'albumine, tandis qu'introduites dans le canal digestif, elles ne donnent rien de pareil. Il faut donc que ces peptones subissent quelque part une transformation dont M. Hofmeister place le siège dans les téguments muqueux du tube digestif. Là les peptones rencontreraient les leucocytes avec lesquelles elles contracteraient une combinaison leur permettant de circuler sans danger. Il semble qu'il soit plus sage d'attribuer au foie, pour les peptones comme pour le sucre candi et l'albumine, cette espèce de digestion secondaire qui donne la qualité assimilable aux produits puisés dans le tube intestinal. De sorte que la digestion, définie comme nous l'avons fait plus haut, doit nécessairement, dans un grand nombre de cas, être suivie d'un deuxième travail qui n'est pas encore l'assimilation, mais qui confère la qualité assimilable aux matières qui traversent le système de la veine-porte. Il serait certainement utile de caractériser ce second travail d'un nom spécial : celui d'élaboration conviendrait assez bien. Il est à remarquer que les résidus de ce second travail reviennent dans l'intestin par les canaux biliaires.

Ces deux phénomènes superposent d'ordinaire leurs effets, bien qu'il y ait des cas où l'un des deux intervient seul. Ils constituent évidemment ce qu'il y a d'essentiel et de physiologique dans la préparation de l'aliment destiné aux cellules de l'organisme. Or, en les examinant, on voit qu'ils se résument en une action de diastases.

C'est une diastase qui fait du maltose ou du glucose aux dépens du sucre candi, qui hydrate l'amidon, qui transforme l'albumine, la caséine, la fibrine en peptones. On ne connaît au contraire aucune diastase qui fasse de l'alcool et de l'acide carbonique aux dépens du sucre, de l'acide lactique ou de l'acide butyrique aux dépens de l'amidon, des sels ammoniacaux, de la leucine, de la tyrosine aux dépens des matières albuminoïdes.

Toutes ces actions sont jusqu'à présent du ressort exclusif des ferments ou des cellules vivantes. La chose était certaine ou du moins acceptée de la plupart des savants au sujet des matières hydrocarbonées ; je l'ai, je crois, démontrée le premier pour les ferments des matières albuminoïdes. A raison de la lenteur de l'action des diastases de ces substances, on ne pouvait prouver qu'elles ne donnent ni gaz, ni acides gras, ni leucine ni tyrosine, qu'à la condition de les laisser agir longtemps sur leur aliment azoté, et cela tout à fait en dehors de la présence des êtres microscopiques. C'est cette élimination complète des cellules vivantes qui est le fondement de la démonstration, et je ne crois pas qu'elle ait été réalisée avant mes expériences sur les diastases de la caséine.

Nous pouvons donc, puisqu'il n'y a pas d'exception à cette action absolument différente des diastases et des ferments, séparer totalement les phénomènes où interviennent les diastases de ceux où figurent des êtres vivants; considérer les premiers comme caractéristiques de la digestion dans son ensemble, et les seconds comme caractéristiques de la putréfaction.

Dans la réalité, cette distinction absolue s'efface un peu. D'abord les cellules des ferments sécrètent des diastases identiques à celle de l'organisme, et ajoutent ainsi leur action à celle des liquides digestifs normaux. De leur côté, les cellules de l'organisme, dans leur procès de nutrition, décomposent la matière organique à la façon des cellules de ferments. Il serait intéressant de suivre dans les profondeurs de l'être vivant l'étude de la vie individuelle des cellules, mais c'est une question qui nous échappe et que nous devons négliger. En nous bornant, comme nous voulons le faire, à l'action qui s'accomplit dans les environs du canal intestinal, nous y trouvons en activité deux groupes principaux de cellules.

Les premières sont celles qui tapissent la surface interne de ce canal. Envisagées non comme sources de diastases, mais comme unités vivantes, elles sont moins nombreuses que celles des ferments qui peuplent l'intérieur du canal. Ce qu'on sait d'elles témoigne que leur vie est loin d'être aussi active. On peut donc les négliger.

Il n'en est pas de même du second groupe de cellules, qu'on peut former de toutes celles qui constituent les glandes déversant leurs sucs dans l'intestin. La vie de ces cellules, pendant la digestion surtout, semble être fort active. Les sucs glandulaires qu'elles sécrètent sont précisément très riches, nous l'avons vu, en leucine, tyrosine et autres produits de la vie cellulaire, de sorte que si d'un côté, les ferments présents dans l'intestin sécrètent des diastases identiques à celles que contiennent les sucs digestifs normaux, de l'autre, les glandes digestives versent constamment dans l'intestin des produits identiques à ceux que donnent les infiniment petits.

Nous avions donc raison de dire que la distinction absolue entre les phénomènes de digestion et les phénomènes de putréfaction s'efface un peu dans la réalité. Pratiquement pourtant, on peut voir que les liquides digestifs n'étant jamais déversés en très grande abondance, et étant en partie résorbés après avoir exercé leur action, les produits de décomposition qu'on trouvera dans le contenu du canal intestinal et dans les fèces proviendront surtout des ferments contenus dans ce canal, et ne représenteront même pas la totalité de ceux qui ont été produits par les microbes, à cause de l'absorption constante à laquelle ils sont soumis.

Nous pouvons donc dans une première approximation, la seule permise dans l'état actuel de la science, mesurer le degré d'intervention des infiniment petits dans les phénomènes de la digestion à la proportion des matériaux qui relèvent d'eux. Parmi ces matériaux, tous n'ont pas la même valeur probante. Les gaz seront évidemment, là ou nous pourrons les recueillir et les analyser, les meilleurs éléments de conviction, aucune diastase connue n'en produisant de quantités sensibles, et les sucs digestifs normaux n'en apportant que des proportions non mesurables.

C'est avec cet instrument de recherches que nous allons revenir sur l'examen des principaux sucs digestifs normaux. Je me bornerai, au sujet de l'histoire physiologique de chacun d'eux, au strict nécessaire, voulant surtout insister sur ce qu'on pourrait appeler son histoire pathologique, son degré d'invasion par les ferments étrangers.

Salive. — Le fait le plus frappant de l'histoire de la salive est l'incertitude où l'on est encore sur le rôle et les propriétés de ce liquide, qui est pourtant presque extérieur à l'organisme, et qu'on peut se procurer en si grandes quantités.

Si, pour simplifier, nous ne remontons pas au delà de Cl. Bernard, nous trouvons qu'il accorde à la salive mixte de l'homme et de certains animaux la propriété de saccharifier la fécule. Or, on n'obtient rien avec les salives parotidienne, submaxillaire et sublinguale, prises isolément ou mélangées en dehors de la bouche. Comme la salive mixte, active, est faite du mélange de ces salives avec celle de la glande de Nuck et des glandules buccales, impossibles à étudier séparément, Bernard en conclut que ce sont ces dernières glandes qui apportent dans la salive mixte l'amylase qu'y révèle l'expérience. Il est clair que cette conclusion néglige la présence dans la bouche d'une foule de ferments que nous allons voir y exister tout à l'heure, et que c'est à eux, bien plus qu'à ces glandules de la bouche, qu'on doit *a priori* rapporter l'origine de la diastase observée.

Remarquons en passant que les diverses salives, isolées, sont toujours plus ou moins fortement alcalines, et que la salive mixte est quelquefois acide.

Ces propriétés reconnues par Bernard à la salive de chien sont-elles générales? Nullement. La salive parotidienne du cheval ou du chien est sans action sur l'amidon; celle de l'homme, extraite sans lésion de son canal excréteur, transforme rapidement l'empois d'amidon en sucre. Pour Jacubowitsch, un mélange de salive parotidienne et de mucus buccal agit très peu; pour Bidder et Schmidt, le même mélange peut agir très rapidement.

Cherche-t-on, pour éviter ces contradictions et ces incertitudes, à séparer de la salive sa diastase pour en étudier les propriétés, on trouve que les procédés de préparation conduisent tous à des corps différents. Ces corps, qui sont sans doute de simples mélanges, exercent tous plus ou moins leur action saccharifiante sur l'amidon, mais il en est qui, en outre, transforment la salicine en saligénine et glucose avec autant de facilité que l'émulsine, et qui même, chose plus imprévue, dédoublent le tannin en acide gallique et en glucose.

Bernard avait été évidemment très étonné de ces variations dans les propriétés physiologiques d'un seul et même liquide. Il avait en outre constaté que la salive mixte bouillie n'avait plus d'action, mais que ses propriétés reparaissaient au bout de quelques jours. De la salive sous-maxillaire d'abord inactive, devient active après quelques jours d'exposition à la chaleur. D'ailleurs, d'autres liquides organiques peuvent acquérir ou possèdent la même propriété. Le liquide des kystes de la grenouillette, des hydropisies, le sérum du sang, le liquide qui a baigné une muqueuse peuvent aussi saccharifier l'amidon. Enfin, de l'eau amidonnée, donnée en lavement, est souvent rendue à l'état d'eau sucrée. Bernard est donc porté à attribuer la diastase salivaire à une altération de la salive.

Il n'est pas douteux que la salive ne renferme d'ordinaire tout ce qu'il faut pour expliquer la présence des diastases en dehors de toute sécrétion physiologique. Elle est peuplée d'êtres divers et très nombreux, d'ordinaire sous forme de filaments assez courts, mais pouvant dans certaines conditions, par exemple après une nuit de repos, ou dans certains cas pathologiques, se déve-

lopper en filaments très longs. Ce sont ces filaments qu'on désigne quelquefois sous le nom de *leptothrix buccalis,* nom qu'il faudrait rayer de la science, car il revient à appeler d'un même nom toutes les herbes d'une même prairie, sous prétexte qu'elles ont toutes figure d'herbes.

L'intervention de ces êtres est manifestée par le changement de réaction que prend souvent la salive après quelques minutes de séjour dans la bouche, et qui est due à la formation de petites quantités d'acide lactique et butyrique aux dépens des débris d'aliments restés dans les dents. La corrosion des dents est souvent due à l'action de ces acides, qui s'exerce d'autant plus sûrement et librement que toute cavité creusée dans l'émail, devient nécessairement un centre, un nid où le ferment pullule en liberté sans être dérangé par aucune action extérieure.

Ces êtres sont évidemment, soit des ferments du sucre, soit des ferments de l'amidon, soit encore des ferments des matières albuminoïdes. Les ferments du sucre doivent être plus rares que les autres. D'ordinaire, le sucre ne fait que passer dans la bouche, et sa solubilité, la facilité avec laquelle il est absorbé, l'empêchent de s'y arrêter. Les ferments des matières albuminoïdes et ceux de l'amidon doivent y être plus fréquents. J'ai en effet retrouvé dans la salive de la caséase, mais les ferments de l'amidon ont été plus étudiés depuis que Leuchs a constaté le premier l'action saccharifiante de la salive sur l'empois.

Ces ferments de l'amidon seront naturellement plus nombreux chez les êtres qui mangent du pain que chez les herbivores, et ainsi s'expliquent, peut-être, quelques-unes des différences signalées par Bernard et les autres savants entre les salives de cheval et d'homme. D'un autre côté, nous savons que l'action de l'amylase est entravée par une légère acidité. Sur le même individu, la salive pourra donc paraître active ou inactive, suivant que la salive sera plus ou moins acide au moment de l'observation.

Il n'y a donc pas à douter que les microbes qui peuplent la salive ne soient souvent intervenus, à l'insu des observateurs. Mais ont-ils été seuls à intervenir, et quelles seraient les propriétés d'une salive d'où on éliminerait tous les produits provenant des êtres qu'on y rencontre?

La question semble facile à résoudre. Il semble qu'il suffise d'aller chercher la salive assez loin, dans les longs conduits parotidiens par exemple, et d'examiner comment elle agit sur de l'empois d'amidon. Mais en ensemençant, avec les précautions voulues, dans un liquide nutritif convenable, des fragments de ces conduits pris à diverses hauteurs, je me suis aperçu que les ferments y remontaient tellement haut que le procédé devient illusoire. Rappelons-nous en effet que les diastases peuvent être retenues mécaniquement par les corps solides, et qu'il peut y en avoir tout le long du canal de Sténon, qui peuvent avoir été sécrétées par les microbes et paraître, si on n'y regarde pas de près, être d'origine tout à fait physiologique.

Si pour échapper à cet inconvénient, on remonte jusqu'à la glande et si on la sépare pour en faire une infusion, on constate que les infusions obtenues ont des propriétés diverses. Celles qu'on fait avec les glandes de l'homme transforment rapidement l'amidon. Il n'en est pas de même pour le chien : il faut attendre avec lui que l'infusion se soit altérée.

Peut-être faut-il voir dans cet effet une influence du mode d'alimentation sur la production de la diastase alimentaire, comme dans les exemples cités au chapitre XIV. Il n'y aurait rien de surprenant à voir se produire dans l'organisme des phénomènes pareils à ceux que nous avons observés sur les mucédinées.

Une expérience facile à répéter, témoignant que normalement et physiologiquement, la salive doit être pauvre en diastase, est la suivante. Au moyen d'une irritation quelconque, celle de l'éther, d'un acide sur la langue, de poivre, on provoque une abondante salivation, soit de l'une des glandes de préférence, en choisissant bien son réactif, soit de toutes à la fois. Les premières portions de salive qui s'écoulent, agissent activement sur l'amidon. Celles qui suivent sont beaucoup moins actives, puis on finit par arriver à des salives presque absolument inertes, et cela au bout d'un assez court intervalle de temps, lorsque la sécrétion de salive est encore loin d'être assez abondante pour qu'on puisse supposer que la glande est épuisée.

On peut donc dire, en résumé, qu'il reste des doutes sur l'origine physiologique de la diastase de la salive. Il se pourrait que ce liquide fut uniquement destiné à lubréfier les aliments, et à permettre dans la bouche leur impression sur le sens du goût. Quoi qu'il en soit, du reste, on s'accorde assez généralement à admettre que le rôle de la salive comme agent de digestion est tout à fait effacé ou même nul. Les aliments féculents séjournent trop peu de temps dans la bouche pour pouvoir subir une saccharification sensible, et une fois le mélange arrivé dans l'estomac, l'acidité du suc gastrique arrête complètement les effets de l'amylase, ainsi que nous l'avons constaté quand nous avons étudié les les propriétés de ce corps.

Digestion stomacale. — A l'inverse de ce qui a lieu pour la salive et les autres liquides de la digestion, l'action du suc gastrique est assez bien connue, sinon dans tous ses détails, du moins dans ses caractères généraux. Cela tient d'abord à ce que cette action est puissante, en second lieu à ce qu'elle peut et doit s'accomplir dans un liquide assez fortement acide, et préservé par là d'une trop active ingérence des infiniment petits. Les digestions artificielles qu'on a pu tenter à son aide ne sont donc que difficilement sujettes aux causes d'erreurs qui rendent dans certains cas si difficile à interpréter les résultats des digestions faites avec les autres sucs digestifs.

Pourtant, il y a encore des ferments qui s'accommodent de cette acidité des liquides stomacaux. Tel est le ferment lactique que j'ai retrouvé dans tous les estomacs que j'ai examinés, et qui y produit l'acide lactique, si souvent rencontré par les observateurs dans leurs recherches sur la nature des acides libres du suc gastrique. Aucun fait ne démontre encore que cet acide lactique soit un produit normal de sécrétion, et n'ait pas été dû, toutes les fois qu'on a observé sa présence, aux cellules du ferment qui l'accompagne toujours.

Kietz a du reste trouvé récemment qu'il n'y a pas d'acide lactique dans le suc gastrique normal dans la première heure de la digestion; il n'y a que de l'acide chlorhydrique en partie libre. Le fait ne doit pas être constant, il doit dépendre du mode d'alimentation, mais il suffit qu'on l'ait fréquemment ob-

servé pour qu'on soit autorisé à ne pas considérer comme physiologique un produit aussi souvent absent que l'acide lactique.

L'acide butyrique peut aussi provenir, dans l'estomac, de l'action du ferment butyrique sur l'acide lactique produit, ou encore d'un commencement de décomposition des matériaux albuminoïdes donnant naissance à du butyrate d'ammoniaque dont l'acide est mis en liberté. Ce qui démontre l'existence de fermentations diverses, sans qu'on sache quelles elles sont d'ordinaire, c'est la nature et la proportion des gaz qu'on rencontre dans l'estomac.

Chez deux chiens, dont l'un A, avait été nourri cinq jours avec de la viande, et l'autre, B, quatre jours avec des légumes cuits, Planer a trouvé, en ouvrant l'estomac trois heures après le dernier repas :

	A	B
Acide carbonique	25,20	32,91
Azote	68,68	66,30
Oxygène	6,12	0,79
	100,00	100,00

Il est évident que l'azote et l'oxygène retrouvés proviennent de l'air entraîné soit dans les mouvements de déglutition, soit avec les aliments, soit dans la salive. Il y a pourtant à remarquer que l'oxygène est partout en volume très faible par rapport à l'azote, et qu'une partie en a toujours été absorbée. La différence des coëfficients de solubilité dans le sang ne peut pas expliquer cette absorption, car elle cesse d'appauvrir en oxygène le mélange gazeux en voie de dissolution, longtemps avant que la proportion de l'oxygène y atteigne 0,79 p. 100. Cette absorption d'oxygène ne peut donc s'expliquer que par la présence de ferments aérobies.

Pour l'acide carbonique, le fait est encore plus probant. Planer, qui attribue l'absorption de l'oxygène à l'action du sang circulant dans les vaisseaux sous-jacents, leur attribue aussi l'exhalation d'acide carbonique. Ici encore, tout est question de mesure, et le sang ne peut pas amener la proportion de ce gaz, dans un mélange où celui qu'il contient se diffuse, à 33 ni même à 25 p. 100. Dans un pareil mélange, il dissoudrait de l'acide carbonique au lieu d'en exhaler. Cet acide carbonique ne peut non plus être produit que par les ferments présents dans l'estomac.

Planer argue, il est vrai, pour se refuser à cette conclusion, de l'absence d'hydrogène : mais les matières albuminoïdes peuvent fermenter, comme nous l'avons vu, sans donner d'hydrogène, qui ne se forme en quantités sensibles qu'avec des ferments anaérobies. Or, à raison de l'air constamment entraîné dans l'estomac, la vie aérobie est toujours plus facile que l'autre dans cet organe.

Ce qu'il y a de vrai, c'est que l'estomac n'est pas physiologiquement le siège d'une fermentation avec notable dégagement gazeux. Il ne le devient que dans certains cas, lorsqu'on a consommé des aliments en fermentation ou prêts à la subir, comme de la bière mousseuse ou du moût de vin, ou du vin doux. Il le devient aussi dans certains cas pathologiques, dans les cas d'éructations répé-

tées. Voici, pour le prouver, le résultat d'une analyse faite par Ewald sur les gaz rendus par un malade affecté de dyspepsie chronique.

L'analyse a révélé les gaz suivants dans deux cas.

	I	II
Acide carbonique	17,40	20,57
Hydrogène	21,52	20,57
Hydrogène protocarboné	2,71	10,75
Ethylène	traces	0,20
Oxygène	11,91	6,25
Azote	46,44	41,38
	100,00	100,00

Ce mélange gazeux brûlait avec une flamme jaune, il contenait une trace d'hydrogène sulfuré. Il faut remarquer ici la présence de l'hydrogène carboné que nous savons être surtout un gaz de la putréfaction végétale. L'estomac de ce malade contenait des acides lactique, acétique, butyrique et les homologues supérieurs de la série des acides gras. Il est clair qu'il y avait là une fermentation complexe dans ses agents et dans ses résultats.

Digestion dans l'intestin grêle. — L'acidité du chyme déversé dans le duodénum est neutralisée par l'arrivée de la bile et du suc pancréatique, et sur une certaine longueur, la réaction est même alcaline. Elle redevient pourtant légèrement acide vers l'extrémité cœcale, surtout lorsque l'alimentation est riche en aliments hydrocarbonés. Elle reste au contraire, d'après M. Bert, alcaline jusqu'à l'extrémité cœcale, lorsque l'alimentation est exclusivement animale. Quand on songe que les substances hydrocarbonées donnent en fermentant surtout des produits acides, et les matières albuminoïdes des produits de préférence alcalins, il est difficile de ne pas attribuer cette variation de la réaction du contenu de l'intestin grêle au développement des ferments dans la masse, sur toute la longueur de l'intestin.

L'analyse de ce contenu y révèle en effet une foule de substances diverses, dont on ne peut attribuer la formation qu'à des microbes ferments, mais nous avons des témoins de leur action dans les gaz qu'on rencontre dans l'intestin grêle.

Dans l'intestin grêle d'un jeune supplicié, qui deux heures avant l'exécution avait mangé du fromage et bu de l'eau rougie, Chevreul a trouvé :

Acide carbonique	24,39
Hydrogène	55,53
Azote	20,08
	100,00

On remarquera l'absence absolue d'oxygène.

Planer a étudié la composition des gaz de cette même partie de l'intestin sur

trois chiens, dont deux étaient les chiens A et B de la p. 796, et dont le troisième C, avait été soumis à un régime de pain.

Il a trouvé pour les gaz,

	A	B	C
Acide carbonique	40,1	47,3	38,8
Hydrogène	13,9	48,7	6,3
Oxygène	0,5	—	0,7
Azote	45.5	4,0	54,2
	100,0	100,0	100,0

Il restait, dans deux cas, des traces d'oxygène dans l'intestin grêle. On remarquera encore la prédominance de l'hydrogène avec une alimentation végétale. Il est évident que nous sommes là en présence des gaz des fermentations.

Il faut noter que toutes ces analyses indiquent à la rigueur la nature, mais qu'aucune ne peut déterminer absolument la quantité totale, ni les proportions réelles des gaz produits, à cause de la résorption facile des gaz dans l'intestin. Planer a constaté que des anses intestinales, remplies d'hydrogène et remises en place, laissaient passer leur gaz dans le sang et se remplissaient en échange d'acide carbonique. La diffusion de l'hydrogène sulfuré est même très rapide. Nul doute que chaque gaz n'ait ses lois particulières de diffusion. Nous pouvons donc demander à ces expériences des renseignements sur la nature des gaz, non sur leur quantité.

Digestion dans le gros intestin. — On a, je crois, le droit d'admettre que le gros intestin ne joue un rôle actif dans la digestion que par l'absorption qu'il exerce, dans toute sa longueur, sur les matériaux utilisables des substances qu'il contient, et grâce à laquelle ce contenu, d'abord presque fluide, passe peu à peu à l'état de fèces, particulièrement sèches chez certains animaux, par exemple, chez le chien convenablement nourri. Pour tout le reste, le gros intestin n'est qu'un vase à fermentation, car il n'y a jusqu'ici aucune raison de croire à la sécrétion d'un suc intestinal doué de propriétés digestives.

Toutes les opérations faites pour isoler ce suc se sont fatalement heurtées à l'ingérence inévitable des ferments qui avaient déversé dans le suc recueilli leurs diastases, et continuaient à l'habiter en nombre, pour se mêler à toutes les digestions artificielles tentées à son aide.

Toutefois, si l'on a le droit jusqu'ici de considérer le gros intestin comme un vase inerte, où se termine l'action des diastases déversées par l'organisme, et où les infiniment petits continuent leur œuvre, il importe de remarquer que les fermentations accomplies dans ce vase se font dans des conditions qu'aucun vase inerte ne peut réaliser, à cause de l'absorption qui, faisant varier constamment la composition de la masse, y enlevant, au fur et à mesure qu'ils se forment, et les produits des diastases qui pourraient en gêner l'action ultérieure, et les produits des ferments qui pourraient entraver le développement de nouvelles générations, permettent une transformation en général bien plus complète et quelquefois tout autre que celle qu'on réaliserait dans un vase de verre. Nous aurons bientôt à nous souvenir de cette observation.

Quoi qu'il en soit, dans le gros intestin, nous retrouvons, avec quelques variations de nature, les mêmes gaz de fermentations que ceux que nous avons déjà rencontrés.

Planer a trouvé les gaz suivants dans l'intestin des chiens A et B des premières expériences et dans celui d'un troisième chien, D, nourri comme A avec de la viande et tué cinq heures après le repas.

	A	B	D
Acide carbonique	74,2	65,1	98,7
Hydrogène	1,4	2,9	—
Hydrogène sulfuré	0,8	—	1,3
Azote	23,6	5,9	—
	100,0		100,0

Si dans l'expérience A, où l'analyse a signalé de l'azote, on fait abstraction de ce gaz, provenant évidemment de l'air, car les proportions d'azote dégagées pendant la putréfaction sont toujours minimes, on trouve les chiffres suivants :

	A	D
Acide carbonique	97,1	98.7
Hydrogène	1,8	—
Hydrogène sulfuré	1,1	1,3
	100,0	100,0

et on voit que la fermentation du gros intestin se traduit à peu près exclusivement par de l'acide carbonique sans hydrogène.

On pourrait accuser une absorption inégale des parois de l'intestin sur ces deux gaz; mais Planer a trouvé les mêmes résultats en faisant fermenter en vases clos les matières du canal intestinal des chiens soumis au régime de la viande.

	Intestin grêle, 24 h. de fermentation.	Gros intestin, 24 h. de fermentation.	Gros intestin, 8 j. de fermentation.
Acide carbonique	80,7	99,0	98,7
Hydrogène	19,3	—	—
Hydrogène sulfuré	—	1,0	1,3
	100,0	100,0	100,0

Dans l'alimentation azotée, c'est donc surtout de l'hydrogène qui se dégage dans l'intestin grêle et de l'hydrogène sulfuré dans le gros intestin. Il en est autrement dans l'alimentation faite de légumes, pour laquelle voici les nombres trouvés en soumettant à une fermentation artificielle les matières puisées dans le canal intestinal du chien B :

	Intestin grêle		Gros intestin	
	24 h. de ferm.	3 mois de ferm.	24 h. de ferm.	3 mois de ferm.
Acide carbonique	66,2	73,0	98,1	100,0
Hydrogène	33,8	27,0	1,9	—
	100,0	100,0	100,0	100,0

L'acide carbonique devient toujours prédominant dans les matières du gros intestin, mais il n'est pas accompagné ici d'hydrogène sulfuré.

Ces expériences ont porté sur le chien. Ruge a fait un grand nombre d'analyses des gaz du gros intestin sur l'homme en bonne santé, en insérant dans l'anus un tube abducteur qui se rendait directement au récipient analyseur.

Il a trouvé, en outre des gaz signalés par Planer, de l'azote, de l'hydrogène protocarboné et de l'hydrogène. L'hydrogène sulfuré était toujours rare. Mais la nature de ces gaz varie notablement suivant le mode d'alimentation. Il varie aussi suivant les sujets, le mode d'alimentation restant le même. Voici quelques-uns des résultats :

Nature des gaz.	Alimentation lactée.		Alimentation de légumes secs.					Alimentation de viande.		
	I	II	I	II	III	IV	V	I	II	III
Acide carbonique . .	16,8	9,9	34,0	38,4	21,0	35,4	17,6	13,6	12,4	8,4
Azote.	38,3	36,7	19,1	10,6	18,9	21,8	32,2	45,9	57,8	64,4
Hydrog. protocarboné	0,9	—	44,5	49,3	55,9	42,8	50,2	37,4	27,5	26,4
Hydrogène	43,3	54,2	2,3	1,5	4,0	—	—	3,0	2,1	0,7
	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Les expériences IV et V, avec l'alimentation de légumes secs, ont été faites sur un sujet différent de celui des expériences I, II, III. On voit que l'hydrogène, dont la proportion était, il est vrai, faible dans les trois premiers cas, a tout à fait disparu dans les derniers.

On voit aussi que l'hydrogène carboné est à peu près absent dans l'alimentation lactée, et abondant avec les deux autres.

L'azote domine surtout dans l'alimentation de viande et dans celle faite avec du lait. Il est en moins grande quantité dans l'alimentation de légumes secs. Mais il n'est pas bien sûr qu'il faille l'attribuer en entier aux produits de la putréfaction. Des modes d'alimentation aussi différents ne pouvaient pas correspondre à l'ingestion de quantités égales d'aliments ; les quantités d'air entraînées doivent avoir été par suite différentes et peuvent avoir été différemment modifiées dans le parcours du canal intestinal. Il peut donc en être resté des quantités différentes d'azote, auxquelles on a le droit d'attribuer en partie les différences observées. Il eût été utile de joindre à ces analyses les gaz de la putréfaction de la matière excrémentitielle abandonnée à elle-même. Malheureusement cette étude n'a pas été faite.

Il ne faudrait pas d'ailleurs attacher une trop grande importance aux constatations que nous venons de résumer. Les recherches qui les ont fournies ont toutes été plus ou moins inspirées par la pensée que la nature des gaz intestinaux avait quelque chose de physiologique. Notre manière de les envisager est tout autre, et nous n'y voyons que le résultat variable de l'action des infiniment petits qui remplissent le canal intestinal. Sans doute, chez un animal déterminé qu'on soumet à un régime uniforme, il y a des chances pour que ces ferments restent longtemps les mêmes, puisqu'ils s'ensemencent d'une façon continue dans de nouveaux matériaux toujours à peu près les mêmes; mais si on change un peu l'alimentation, si une circonstance quelconque rend moins ou plus

complète la digestion diastasique et l'absorption, tout peut évidemment changer.

Nous venons de voir, dans les expériences de Ruge, l'hydrogène protocarboné accompagner l'alimentation avec des légumes secs chez l'homme. Planer n'en a jamais trouvé avec la même alimentation chez le chien; mais ce qu'il y a de plus singulier, c'est que Hoffmann n'en a pas non plus rencontré avec des herbivores, des lapins soumis aussi au régime des légumes secs, ni dans le mélange gazeux provenant de la mise en fermentation de farine de légumineuses avec le contenu intestinal de lapins récemment tués.

Dans le cadavre, la production de gaz par les ferments continue. Nous avons vu le rôle qu'elle jouait dans la décomposition générale des tissus. Les phénomènes d'endosmose gazeuse ayant en grande partie cessé avec la circulation du sang, la nature et la proportion des gaz trouvés dans ces conditions peuvent être différentes de ce qu'on trouve pendant la vie. On doit à Planer quelques analyses faites sur des cadavres, conservés à basse température pour empêcher l'apparition de la fermentation putride.

	Estomac		Intestin grêle		Gros intestin		
Acide carbonique	20,79	33,83	16,23	32,27	30,64	34,80	34,19
Hydrogène	6,71	27,58	4,04	35,55	—	—	—
Hydrogène protocarboné	—	—	—	—	—	—	12,88
Hydrogène sulfuré	—	—	—	traces	—	—	traces
Azote	72,50	38,22	79,73	31,63	69,36	65,20	50,20
Oxygène	—	0,37	—	0,05 ?	—	—	2,73
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

L'existence dans un cas d'une faible proportion d'oxygène, dans le contenu du gros intestin, confirme ce que nous avons dit sur l'origine purement atmosphérique des fortes proportions d'azote rencontrées quelquefois.

Digestion chez les herbivores. — Dans tout ce qui précède, nous n'avons examiné attentivement aucun cas où la digestion fut surtout une digestion de cellulose. Nous avons vu au chapitre X les caractères spéciaux que présente la digestion de cette matière alimentaire. On ne connaît pas de diastase normale de l'organisme capable de la digérer, et cependant elle est assimilée dans des proportions considérables.

Les récentes expériences de M. Muntz sur l'alimentation des chevaux, où les divers éléments constitutifs des fourrages ont été séparés et étudiés dans dans leur digestibilité avec plus de précision qu'ils ne l'avaient encore été, donnent les chiffres suivants pour la proportion de cellulose assimilable dans diverses graines et dans divers fourrages. Ces chiffres séparent, dans certains cas, la cellulose saccharifiable de la cellulose brute, et donnent les proportions digérées de ces deux substances sur 100 parties de chacune d'elles entrant dans la composition de la ration journalière de l'animal. Cette ration était du reste faite de façon à maintenir l'animal en bon état de santé.

	Cellulose saccharifiable.	Cellulose brute.
	—	—
Maïs d'Amérique n° 1	86,9	82,8
Antre maïs d'Amérique	91,8	47,1
Avoine de Russie	75,1	72,6
Autre avoine de Russie	—	31,4
Féveroles de Bourgogne	93,7	83,0
Son de blé	94,9	77,6
Son de riz	—	84,9
Foin de Seine-et-Marne	87,5	81,2
Autre foin de Seine-et-Marne	—	63,7
Autre — —	—	67,2
Paille de blé	—	57,2
Autre paille	—	66,4

Tous ces chiffres n'ont rien d'absolu. Ils dépendent de la qualité de la denrée. Ils dépendent aussi, et dans une assez faible mesure, de l'individualité du cheval, du degré de perfection de la mastication, du degré de puissance de l'action subie dans le canal digestif.

Mais ils montrent tous que la digestibilité de la cellulose est notable. Il est remarquable qu'elle n'est guère plus faible, dans quelques cas, pour la cellulose brute, que pour la portion de cellulose, évidemment moins agrégée, qui se transforme en sucre sous l'action des acides.

On peut voir assez facilement, dans les ruminants, comment se fait cette digestion. La panse de ces animaux ne secréte aucun suc digestif. Elle est douée seulement de propriétés absorbantes assez énergiques pour les liquides et les matières en solution. Dans la masse des aliments qu'une première mastication, quelquefois très imparfaite, y a réunis, on trouve naturellement une foule de ferments qui y vivent, y amènent des dégagements gazeux que nous allons retrouver, et y commençent dans une certaine mesure la digestion de la matière alimentaire.

Le fait est surtout frappant pour les graines de céréales ingérées. On en trouve beaucoup, au bout de quelque temps de séjour dans la panse, qui sont devenues molles, et qui, écrasées, laissent sortir une goutte laiteuse formée d'éléments dissociés. Ces éléments sont ceux du contenu des cellules, dont les parois ont été ou liquéfiées ou au moins à moitié dissoutes par les ferments de la cellulose, que l'on peut en effet retrouver à l'œuvre, et caractériser comme tels par un ensemencement dans un milieu approprié.

Leur intervention est démontrée par la nature des gaz qui remplissent la panse et la distendent quelquefois. Nous possédons sur ce sujet un travail de Rappeiner, qui a analysé les gaz de l'intestin de divers herbivores, et les a comparés aux gaz obtenus en soumettant à la fermentation, à une température voisine de celle du corps humain, le contenu de ces intestins. Voici les résultats qu'il a trouvés.

GAZ INTESTINAUX DE VACHES NOURRIES AVEC DU FOIN

Gaz intestinaux.	Panse.	Intestin grêle. Commencement.	Milieu.	Fin.	Gros intestin.	Rectum
Acide carbonique et hydrogène sulfuré	65,27	17,69	—	—	36,35	14,46
Hydrogène	0,19	3,96	—	—	2,29	—
Hydrogène protocarboné	30,55	49,15	—	—	35,21	44,23
Azote	3,99	29,96	—	—	23,14	41,31
Gaz de fermentation.						
Acide carbonique et hydrogène sulfuré	75,47	62,06	81,65	92,23	80,84	—
Hydrogène	0,07	37,64	17,60	0,01	—	—
Hydrogène protocarboné	23,27	0,41	—	6,59	17,25	—
Azote	1,31	—	0,71	1,20	1,97	—

GAZ INTESTINAUX DU CHEVAL NOURRI AVEC DU FOIN

Gaz intestinaux.	Estomac.	Intestin grêle. Commencement.	Fin.	Cæcum.	Colon.	Rectum
Acide carbonique et hydrogène sulfuré	75,20	42,70	15,65	85,47	55,18	29,19
Oxygène	0,23	—	—	—	—	—
Hydrogène	14,56	19,38	24,06	2,33	1,69	0,83
Hydrogène protocarboné	—	—	—	11,16	32,73	56,62
Azote	9,99	37,44	59,62	0,90	9,99	13,44
Gaz de fermentation.						
Acide carbonique et hydrogène sulfuré	—	—	80,60	85,40	70,49	—
Hydrogène	—	—	15,65	0,50	—	—
Hydrogène protocarboné	—	—	0,09	13,40	26,08	—
Azote	—	—	3,66	1,20	3,43	—

Pour les gaz de la panse, dans la vache, le parallélisme est presque parfait entre les gaz normaux de la panse et ceux de la fermentation artificielle. On le retrouve, très net encore, pour le cœcum du cheval, c'est-à-dire dans les points où l'action des sucs normaux de la digestion est très faible. Elle est moins nette ailleurs, mais on voit que ce sont partout les mêmes gaz, et que partout par conséquent, dans le canal intestinal comme dans des vases inertes, les ferments jouent un rôle qui ne saurait passer inaperçu.

Quant à leur action sur la digestion de la cellulose, Rappeiner l'a démontrée en prenant des portions pesées des matières de l'estomac, de l'intestin grêle et du cœcum d'un animal récemment tué, et en les divisant chacune en trois parties dont l'une a été mise à fermenter à la température du corps, la seconde traitée par un antiseptique, la troisième bouillie. Le cellulose n'a disparu que dans la première portion. Les gaz de la fermentation étaient du gaz des marais et de l'acide carbonique. En ajoutant aux matières du papier et du coton, on les voyait disparaître à l'œil nu. Il n'est donc pas douteux qu'il n'y ait fermentation artificielle de cellulose dans le canal intestinal.

Part des ferments dans la digestion. — Il nous resterait, pour terminer cette étude, à indiquer quelle est, dans une digestion normale, la part d'intervention des liquides normaux de l'organisme, et celle des infiniment petits. C'est une question difficile à résoudre. On ne peut guère avoir recours à des dosages des produits de la putréfaction propre, tels que les gaz, les acides gras, la leucine, la tyrosine, le scatol, à raison de l'absorption continue qu'ils subissent tout le long de l'intestin. La tyrosine, a raison de sa faible solubilité, pourrait se prêter à cette recherche, mais j'ai trouvé son dosage exact très difficile à faire dans les mélanges complexes d'où il fallait la retirer.

Le seul moyen d'acquérir quelques notions sur ce sujet est de chercher à quel degré se fait dans un vase inerte, à une température voisine de celle du corps, la transformation d'un bol alimentaire ensemencé avec quelques gouttes de suc intestinal, et cela pendant un temps égal à la durée ordinaire de séjour des aliments dans l'intestin, durée qui pour moi est d'ordinaire de trois jours. Il est certain que la fermentation en vase inerte sera toujours plus lente que dans l'intestin, où d'autres diastases interviennent, où les premiers produits formés sont enlevés presque immédiatement, et ne gênent pas l'action ultérieure. La comparaison est donc au désavantage de la fermentation artificielle. Malgré cela j'ai trouvé que la quantité totale de matière dissoute à l'étuve, dépassait toujours la moitié de celle qui se dissolvait dans la digestion normale, et qu'ainsi l'action des ferments dans le tube digestif est au moins comparable pour sa puissance à celle des liquides normaux de la digestion.

BIBLIOGRAPHIE

Cl. Bernard. — *Leçons de physiologie expérimentale*, t. II
— *Leçons sur les propriétés physiologiques et les altérations pathologiques des liquides de l'organisme*, 1859.
Hofmeister. — Peptones dans le sang. *Chem. Centralbl.*, 1881, p. 506.
Wittich. — *Arch. f. Physiol.*, t. II, p. 193.
Chevreul. — Cité par Magendie. *Physiologie*, t. II, p. 89.
A. Kietz. — Digestion dans l'estomac. *Chem. Centralbl.*, 1882, p. 46.
Planer. — *Sitzungsber. d. Akad. zu Wien*, t. XLII.
Ruge. — Id., XLIV, p. 734. *Chem. Centralbl.*, 1862, p. 347.
Hoffmann. — *Wien. medizin. Wochenschrift*, 1872, n° 24.
Duclaux. — Recherches sur la digestion. *Comptes rendus*, 1882, 1er semestre.
H. Rappeiner. — Gaz intestinaux des herbivores. *Berichte der deutsch. Chem. Gesellschaft*, t. 14 et 15.

CHAPITRE LXXI

FORMATION DE L'HUMUS

A côté des phénomènes de putréfaction viennent naturellement se placer les phénomènes de combustion lente qui se produisent sur une immense échelle à la surface de tous les sols. Nous allons y retrouver en action les mêmes êtres que ceux que nous venons de rencontrer dans la putréfaction des matières animales. Nous allons y retrouver aussi la même confusion, provenant encore de ce qu'on n'a pas jusqu'ici étudié la question en faisant agir des microbes bien purs sur des espèces chimiques déterminées, et de ce qu'on s'est contenté d'envisager en gros les transformations d'un végétal ou d'une partie d'un végétal, en abandonnant l'ensemencement au hasard des germes apportés par l'air, le sol ou les eaux.

Aussi l'étude que nous allons en faire sera-t-elle à peu près calquée sur celle que nous venons de terminer. Nous ne nous préoccuperons que du sens général de l'action qui s'accomplit, des influences qu'elle peut subir de la part des agents extérieurs, et des caractères essentiels des corps auxquels elle aboutit. Quant à la nature intime de ces corps, à leur influence sur la végétation, à leur rôle agronomique, toutes ces questions, ou bien ne sont pas assez mûres pour être discutées, ou bien ne sont pas de notre domaine.

Les combustions lentes des matières végétales paraissent, comme nous l'avons dit, au premier abord, très différentes des putréfactions animales, et dans ses études sur ce sujet, Liebig les en avait toujours distinguées. Nous avons eu l'occasion de faire remarquer que l'un des caractères mis en avant pour cela, l'odeur si désagréable dans un cas, si faible dans l'autre, ne devait pas entrer en ligne de compte, parce qu'elle ne tient qu'à la différence de richesse en matière azotée. Les plantes et les graines riches en azote, les pois, les haricots, les asperges soumises à la macération, répandent une odeur plus putride que bien des matières animales.

Il ne faut pas attribuer plus d'importance à la dissolution, à la colliquation des tissus qui accompagne d'ordinaire les phénomènes de putréfaction. La pourriture qui se déclare quelquefois dans les tas de fruits ou de tubercules est tout à fait analogue à cette sorte de liquéfaction que peuvent subir dans certains cas les matières animales. Il faut reconnaître pourtant que les végétaux, en gé-

néral, se déforment moins que les animaux. Ils doivent cette résistance à la cellulose plus ou moins incrustée qui forme la base de leur organisation, et qui est, comme nous l'avons vu, une des substances les plus rebelles à l'action des infiniment petits; cette cellulose ou les matières qui lui ressemblent sont en faible proportion dans les tissus animaux, qui sont très riches en substances azotées. Ces substances à leur tour sont rares et disséminées dans les végétaux, où la cellulose prédomine. Cette différence dans les proportions des éléments constituants donne à la putréfaction végétale des caractères spéciaux, comme nous allons nous en convaincre en étudiant à part la destruction des aliments azotés et celle des éléments hydrocarbonés.

Destruction des éléments azotés. — La destruction des éléments azotés se fait dans les végétaux comme nous l'avons vu à propos de la caséine, et ils descendent graduellement l'échelle de décomposition dont nous avons indiqué les degrés principaux, pour aboutir en dernière analyse à du carbonate d'ammoniaque. Mais ce qu'il faut remarquer de suite, c'est que toutes choses égales d'ailleurs, et à poids égal de matière azotée, elle sera décomposée et détruite plus vite dans le végétal où elle est disséminée que dans l'animal où elle est agglomérée, et où les premiers produits de sa transformation sous l'action des ferments gênent leur action ultérieure.

Si à cette première cause de dissémination vient se joindre, comme cela a lieu d'ordinaire, l'éparpillement des débris du végétal dans le sol, on comprend que la destruction de la matière végétale azotée pourra devenir très active. Il est important de prendre une idée de la rapidité de ce phénomène de combustion lente dans le sol, et nous pouvons pour cela prendre divers exemples.

Earth system. — Il existe, assez largement répandu en Angleterre et dans d'autres pays, un système d'utilisation des déjections humaines, au moyen de leur mélange avec de la terre desséchée. Ce système, imaginé par H. Moule, porte le nom d'*Earth System*, *système à la terre*, par opposition avec le *Water system*, ou *système à l'eau* que nous examinerons tout à l'heure.

Voici en quelques mots en quoi il consiste. On fait sécher au soleil ou dans des fours de la terre commune, de préférence de la terre argileuse. Puis on la pulvérise grossièrement, l'expérience ayant montré qu'elle était plus active lorsqu'elle n'était pas trop fine, et on en recouvre soit directement, soit au moyen d'un appareil automatique, chaque évacuation alors qu'elle est encore fraiche, ou au moins avant qu'elle ait subi un commencement de fermentation. Les proportions sont à peu près de six à sept parties de terre pour une de matière solide; pour des raisons que nous allons indiquer tout à l'heure, les matières liquides se prêtent moins bien à ce mode de désinfection.

Au bout de quelques jours, le mélange ainsi formé peut être enlevé, il ne présente aucune mauvaise odeur. On peut s'en servir immédiatement et le répandre comme engrais, mais il est préférable de l'abandonner quelques semainee à lui-même à sec sous un hangar. Au bout de ce temps, la matière est devenue homogène et forme un compost qui peut à nouveau être desséché, pulvérisé, et servir une seconde fois, une troisième, jusqu'à une sixième fois

aux mêmes usages. On peut ainsi augmenter la valeur agricole de l'engrais, et diminuer les frais de transport.

Si on examine le mélange encore frais, au moment où on le retire de la fosse, on trouve les matières excrémentitielles sèches et presque friables, parce qu'elles ont cédé leur eau à la terre sèche dont on les a entourées. Toute leur masse est pénétrée de mycéliums de mucédinées, dont les fructifications apparaissent dans toutes les fissures, et les colorent de teintes diverses. Il est évident qu'il se fait là une de ces combustions actives que nous savons pouvoir être produites par les végétaux cryptogamiques. L'air pénétrant partout, l'odeur est faible ou même nulle, et c'est précisément parce que la circulation de l'air est nécessaire dans toute la masse que les liquides ne se prêtent pas bien à l'application pratique de ce système. Il faudrait les mélanger à de trop grandes quantités de terre pour en faire un compost perméable.

Cette matière organique, disséminée dans le sol, et maintenue à une demi-humidité, subit une combustion tellement rapide, qu'au bout de quelques semaines de séjour sous les hangars, elle est à peu près intégralement transformée. L'acide carbonique et l'eau qu'elle a fournis ont disparu ; il reste dans le sol la plus grande partie de l'azote, soit à l'état d'ammoniaque, soit à l'état de nitrates; ce qui reste de matière organique azotée et non azotée est absolument inodore, et on comprend que ce compost possède encore quelques-unes des propriétés poreuses et absorbantes de la terre initiale et puisse servir à produire une nouvelle désinfection.

Les analyses suivantes, dues à Radcliffe, donnent l'idée des changements de composition qui peuvent s'effectuer dans ces terres desséchées, après un premier, un second et un troisième usage. Je ne cite que les nombres relatifs à l'acide phosphorique, à la matière organique, à la matière azotée; ces nombres sont rapportés à 100 de mélange, supposé desséché à 100°.

	Terre n'ayant pas encore servi.	Après le 1er emploi.	Après le 2e emploi.	Après le 3e emploi.
	—	—	—	—
Acide phosphorique	0,18	0,25	0,44	0,51
Matières organiques et eau de combinaison	9,79	9,88	11,53	12,48
Matières azotées	0.31	0,37	0,42	0,51

On voit que l'augmentation des éléments fertilisants est graduelle, mais la combustion de la matière organique est assez complète pour que cette augmentation soit faible, et on comprend que la terre qui a servi trois fois, puisse encore servir aux mêmes usages.

On voit aussi que l'augmentation des matières azotées est moins rapide que celle de l'acide phosphorique. Les matières étudiées provenant d'une prison où le régime alimentaire est uniforme, on ne peut chercher dans la différence de nature des déjections, l'explication des différences très grandes dans l'enrichissement en azote et en acide phosphorique. Il faut donc qu'une portion de l'azote ait disparu. Cette conclusion ne doit pas nous surprendre après ce que nous avons vu de la putréfaction; mais cette perte constitue pour ce procédé une imperfection dont il était utile de connaître la raison théorique.

La condition nécessaire de son fonctionnement est l'aération continue du mélange. Il faut cela, non-seulement pour que les microbes aérobies puissent fonctionner, mais aussi pour que les gaz ammoniacaux du sol y restent confinés Si, comme l'a fait le Dr Rolleston, on fait traverser par un courant d'air de la terre sèche humectée d'une petite quantité de solution ammoniacale, cet air n'emporte aucune trace d'ammoniaque. Il trouble, au contraire, le réactif de Nessler lorsque la terre est noyée dans l'eau. Ce sont là les phénomènes sur lesquels M. Schlœsing a tant insisté, et dont il a si bien mis en lumière le rôle cosmique.

Water-system. — Dans ce procédé, tout ou partie des matières excrémentitielles et des détritus provenant d'agglomérations plus ou moins nombreuses, est délayé dans l'eau et entraîné par les fleuves ou rivières jusqu'à la mer. La matière organique subit, de ce fait, une dilution plus ou moins sensible, et corrélativement, nous allons y voir apparaître, si les conditions sont favorables, les phénomènes d'oxydation et de combustion lente que nous venons de constater dans les matières organiques disséminées dans le sol.

On ne peut mieux prendre une idée de ces phénomènes qu'en étudiant ce qui se passe dans la Seine, après le pont d'Asnières, à partir du point où elle reçoit le grand égout collecteur de Clichy. Pendant toute la traversée de Paris, l'aspect est satisfaisant, le fond formé d'un sable blanc, les poissons vivent dans toute la largeur de la rivière. Le courant considérable d'eau noirâtre qui sort de l'égout change brusquement cette situation. Cette eau a un aspect répugnant. Elle est chargée de débris et recouverte d'une écume graisseuse qui, suivant la direction du vent, vient s'accumuler sur une rive ou sur l'autre. L'eau de l'égout occupe la moitié de la largeur de la rivière, et en couvre le fond d'une vase noirâtre qui finit par former de véritables atterrissements. Là, la matière organique est en excès et subit une fermentation active, qui se traduit par des bulles innombrables de gaz. Pendant une partie de l'année, au moment des chaleurs, ces bulles peuvent atteindre 1 mètre à 1m,50 de diamètre. L'odeur est putride et persiste pendant plusieurs kilomètres. Sur certains points, aucun être vivant, aucune herbe verte ne se rencontre sur les portions parcourues par l'eau de l'égout.

A Saint-Denis, le collecteur départemental vomit une nouvelle masse fétide. Entre Saint-Denis et Épinay, la rivière du Croult apporte un nouveau contingent d'eaux industrielles qui ajoutent à l'infection. D'Épinay à Argenteuil, une amélioration se manifeste, la vase a à peu près disparu, le poisson reparaît en temps normal. Mais la rive droite du fleuve, qui a reçu toutes les eaux impures, est encore assez foncée. Ce n'est qu'au delà de Marly que la coloration du fleuve commence à diminuer. L'eau est encore trouble et d'un goût peu agréable à Saint-Germain et à Maisons-Laffite ; mais au delà, vers Conflans, surtout au confluent de l'Oise, la Seine a repris à peu près son aspect de Paris. A Meulan, toute trace d'infection a disparu.

Il est clair qu'en ce point, les infiniment petits ont eu raison de toute la partie des matériaux organiques solides qui ne s'est pas déposée sous forme de vase sur le trajet parcouru par l'eau, et cette vase, si abondante qu'elle soit, ne re-

présente évidemment qu'une portion du poids total de matière solide apportée par les égouts. Les microbes ont eu aussi raison de tous ou à peu près de tous les éléments en dissolution, et ces éléments forment une fraction notable de l'ensemble.

D'après les analyses poursuivies depuis dix ans au laboratoire des Ponts et Chaussées, les eaux d'égout contiennent à peu près par mètre cube, au moment où elles arrivent en Seine, 968 grammes de matières solubles et 1k,940 de matières solides. Le cube moyen versé par jour étant de 250,000 mètres cubes environ, on voit qu'il y a, au minimum, en se bornant uniquement aux matières solubles, 250 kilogrammes de matière organique journellement transformée, et, sinon totalement brûlée, du moins amenée à une forme inoffensive par l'action des infiniment petits, sur le court trajet de la Seine de Paris à Meulan.

Si, avec ces renseignements et les notions que nous possédons au sujet des ferments, nous nous demandons qu'elles sont les transformations chimiques qui doivent s'accomplir dans l'eau pendant ce trajet, nous trouvons :

1° Que la quantité d'azote organique, sous des formes autres que celles de sels ammoniacaux volatils, doit croître brusquement en aval des débouchés des collecteurs et aller en diminuant ensuite graduellement par suite des combustions de la matière organique ;

2° Que la quantité d'azote total doit suivre la même marche, mais dépasser à Meulan ce qu'elle est à Asnières de tout ce qui a été gagné par suite de la solubilisation incessante produite par les ferments ;

3° Que l'oxygène présent dans l'eau doit suivre une marche inverse, diminuer brusquement en aval des collecteurs, et revenir peu à peu à son niveau normal quand l'action des ferments commence à se ralentir. Rien n'égale la rapidité avec laquelle une eau se désaère quand elle est le siège d'une fermentation, rien, si ce n'est la rapidité avec laquelle elle s'aère de nouveau quand elle cesse d'être soumise à leur influence. Il n'est besoin pour cela, ni d'un courant tourmenté, ni de saut au-dessus d'un barrage; quelques mètres de parcours à l'air suffisent, et la dose d'oxygène, en un point quelconque, est une mesure précise de la quantité d'action qu'exercent en ce point les ferments de la matière organique.

Ces déductions théoriques sont en parfait accord avec l'expérience, ainsi que le montrent les chiffres du tableau suivant qui donne :

Dans la 1re colonne, l'indication des points où ont été faites les diverses prises. Nous rappelons que la rive droite du fleuve étant celle qui reçoit les deux grands égouts dont nous avons parlé, c'est sur cette rive que les eaux restent le plus longtemps troubles et impures.

Dans la 2e colonne, les quantités d'azote organique, non encore transformé en sels ammoniacaux, quantités exprimés en grammes par mètre cube.

Dans la 3e colonne, et exprimées de la même façon, les quantités d'azote total, y compris les sels ammoniacaux.

Dans la 4e colonne, les quantités d'oxygène dissous, évaluées en centimètres cubes par litre d'eau.

I	II	III	IV
Pont d'Asnières. Amont du collecteur	0gr,85	1gr, 9	5cc.34
Débouché du collecteur de Clichy	—	25 ,05	—
Clichy. Bras droit	1, 51	4 ,00	—
Saint-Ouen. Bras droit	1 ,16	2 ,00	4 ,07
Saint-Denis. Amont du collecteur	—	2 ,00	2 ,65
— Débouché du collecteur départemental.	—	98 ,00	—
— Aval du collecteur et du Croult	7, 27	11 ,29	1 ,02
Épinay. Bras droit	1 ,26	3 ,00	1 ,05
Bezons. Toute la largeur du courant	0 ,87	1 ,9	1 ,54
Marly. Bras gauche	0 ,78	3 .5	1 ,91
Saint-Germain	0 ,76	2 ,2	—
Maisons-Laffitte	0 ,79	2 ,5	3 ,74
Poissy	0 ,45	2 ,2	6 ,12
Meulan	0 ,40	—	8 ,17
Mantes	—	—	8 ,96

La dose d'oxygène des eaux du fleuve à Vernon et à Rouen est de 10,4 : on voit qu'à Mantes la teneur normale est à peu près rétablie, ce qui veut dire que l'action des ferments à partir de ce point est à peu près négligeable.

Voilà donc un exemple de la rapidité avec laquelle s'oxydent les matières organiques lorsqu'elles sont soumises, très divisées et suffisamment aérées, à l'action des ferments. Nous ne pouvons évidemment dans ce cas, faire intervenir que les microbes, les actions directes d'oxydation sont, comme nous l'avons constaté au début de ce livre, impuissantes à amener de pareils résultats.

Système d'épuration des eaux d'égout dans le sol. — Entre les deux systèmes que nous venons d'étudier vient s'en placer un troisième, dans lequel les matières fermentescibles sont d'abord diluées dans une certaine quantité d'eau, mais où l'on demande la purification de ces eaux d'égout, non plus à un fleuve, mais au sol comme dans le *Earth system.* En amenant ces eaux sur un sol meuble, les matières insolubles sont d'abord arrêtées par la surface comme par un filtre, les particules les plus ténues sont arrêtées un peu plus bas. La plus grande partie des matières en solution est elle-même retenue par le filtre puissant et volumineux dans lequel elles pénètrent, le travail de combustion y commence de suite, et si le sol est assez poreux ou assez bien drainé, si l'apport journalier des matériaux est en proportion de la puissance comburante des microbes, on peut réaliser une destruction presque complète de la matière organique et la réaliser sans odeur sensible.

Ce que nous avons vu, à propos du *Earth system*, nous montre qu'il faudra éviter l'exagération dans la proportion d'eau dans le sol. C'est la présence de cette eau qui limite le taux de transformation journalière dans le sol, bien plus que la puissance comburante des microbes, qui s'élève avec le poids de matière alimentaire qu'on leur offre. Mais il faudrait que l'eau disparaisse du sol aussitôt après y avoir déposé les matériaux qu'elle y apporte. Un drainage bien fait en assure l'écoulement et aussi, dans une certaine mesure, la circulation de l'air en sens inverse. Une mise en culture de la surface aide à l'action en évaporant une partie de l'eau, mais il faut bien remarquer qu'elle n'est pour rien dans la des-

truction de la matière organique, qui pourrait s'accomplir sur un sol stérile, dans des sables purs, et n'a lieu que sous l'action à peu près exclusive des infiniment petits.

En partant de ce qui précède, on comprend qu'il est facile de déterminer par l'expérience ce qu'un sol déterminé peut épurer journellement de matière organique, en versant à sa surface de l'eau d'égout en quantités croissantes jusqu'au moment où l'eau, recueillie à sa partie inférieure, ressort encore trop chargée de matériaux divers pour pouvoir être considérée comme pure. Les nombres qu'on obtient ainsi n'ont évidemment pas un caractère absolu. Ils dépendent de l'aération du sol, qui peut être plus ou moins active. Ils s'élèvent lorsque l'eau d'égout est plus chargée et qu'à un même degré d'humectation du sol correspond une plus forte proportion de matière organique. Ils dépendent de la température. Mais dans la pratique, il est toujours prudent de se tenir au-dessous des chiffres maximum. A Paris par exemple, 1 hectare du sol de la presqu'île de Gennevilliers, ou des terrains analogues qui se trouvent dans les diverses boucles de la Seine, peut épurer complètement 57,000 mètres cubes d'eau par an. Dans la pratique, on n'en distribue pas plus de 50,000 mètres. L'épaisseur utile de ce sol est en moyenne de 2 mètres. Dix-huit à vingt jours s'écoulent entre le moment où de l'eau arrive à la surface de cette couche et celui où, par une série de déplacements successifs, elle en sort par la partie inférieure, soit par les drains, soit autrement.

Lorsque l'épuration est bien faite, cette eau est limpide, et plus pure, au point de vue des matières organiques, que l'eau de la Seine en amont des collecteurs. Nous laissons pour le moment de côté la richesse en germes, sur laquelle nous avons donné quelques renseignemente au chapitre VI, et sur laquelle nous reviendrons.

Les beaux travaux de Frankland peuvent nous donner une idée des modifications de composition qu'elle subit dans son passage à travers le sol. Voici les analyses, avant et après filtration, des matières en dissolution dans les eaux de Merthyr Tydfil, où l'irrigation est pratiquée à la dose de 200,000 mètres cubes par hectare et par an, c'est-à-dire à une dose quatre fois supérieure à celle de la presqu'île de Gennevilliers.

Matières au mètre cube	Avant filtration.	Après filtration.
Carbone organique	0^k,021	0^k,003
Azote organique	0 ,009	0 ,0005
Ammoniaque	0 ,031	0 ,0005
Azote sous forme d'azotates ou d'azotites	0 ,0002	0 ,003
Total de l'azote combiné	0 ,034	0 ,003

On voit qu'il y a près de 90 p. 100 de l'azote combiné retenu et en grande partie détruit dans le sol. Quant aux matériaux en suspension dans l'eau, ils sont totalement arrêtés.

On pourrait craindre que le sol ne finisse par s'encrasser, après avoir servi longtemps à ce travail d'épuration. Mais il ne faut pas oublier que les microbes décomposent incessamment la matière organique, et, en fait, l'analyse montre

que si les terres irriguées à l'eau d'égout sont un peu plus riches en terreau à leur surface que les terres non irriguées, les proportions de carbone et d'azote diminuent au fur et à mesure qu'on s'enfonce dans le sous-sol et, tombent assez rapidement au niveau de ce qu'ils sont ailleurs. La culture de la surface aide à cette disparition en prenant une partie des matériaux formés dans le sol, et, dans l'ensemble, une terre arrosée à l'eau d'égoût n'est pas, si les conditions d'une bonne épuration sont bien observées, dans une autre situation que les terres fumées au fumier de ferme, et que les plus copieuses fumures n'ont jamais encombrées de matière organique, parce que la combustion des matériaux s'y proportionne à leur abondance.

Il y a pourtant, comme nous l'avons vu, toute une catégorie de matériaux qui ne disparaît pas : ce sont les germes des microbes. Nous avons vu que M. Pasteur avait pu retrouver au bout de douze ans des germes de bactéridies sur la fosse d'un animal charbonneux. On pourrait dire que la conservation est due dans ce cas à ce qu'il y a dans les matières organiques du sol, surtout du sol abondamment fumé par les débris de l'animal qui s'y est putréfié, de quoi rendre possible des cultures de la bactéridie, qui renouvelées sinon sans cesse, du moins de saison en saison, ont assuré la conservation de l'espèce. Mais nous savons, par les expériences de la p. 116, que des germes conservés au sec peuvent survivre après six ans. Il est vrai que dans le sol les germes ne rencontrent ni la sécheresse relative que nous savons favoriser d'une manière générale leur conservation, ni des liquides organiques assez riches pour les nourrir. En général, ils sont baignés dans des liquides organiques très pauvres, où ils ne se développent pas, et nous savons, par ce que nous avons vu à propos des vaccins, que se sont là les conditions les plus favorables à leur destruction rapide. Il se peut que cette destruction soit une règle générale dans les terrains irrigués à l'eau d'égout. Mais il se peut aussi que ces terrains conservent la vitalité des germes, et en particulier ceux des germes de maladies contagieuses que renferment toujours les vidanges d'une grande ville. Il est absolument impossible en ce moment-ci de décider de cette question dans un sens ou dans un autre. Des études spéciales peuvent seules dire quelle est la valeur hygiénique de ce procédé d'utilisation des eaux d'égout dont la valeur économique est incontestable.

Combustion lente des matériaux azotés dans le sol. — Avec ce qui précède, nous avons fait l'étude de ce qui se passe dans le sol. Là aussi, les infiniment petits président à la destruction des matériaux hydrocarbonés et azotés qu'on leur présente. Leur œuvre s'accomplit seulement, en moyenne, avec plus de lenteur quand il s'agit de culture que lorsqu'il s'agit d'épuration. Avec la teneur en matériaux organiques que nous connaissons aux eaux d'égouts. 50,000 mètres cubes à l'hectare correspondent à l'apport annuel de 35,000 kilogrammes de matière organique sèche, et il n'est aucune culture qui réclame de pareils apports de fumure. Le travail des microbes dans un sol cultivé est donc moins actif que dans les filtres d'épuration. Il se borne à détruire et à mettre sous forme assimilable pour les plantes, les matériaux organiques rencontrés dans le sol, ceux qui y restent comme débris ou résidus après chaque culture, ceux que les fumiers y apportent et qui ont déjà subi un com-

mencement de transformation dans le tas ou la fosse à fumier, toujours sous l'influence des infiniment petits. La dissémination dans le sol en amène une destruction plus rapide. Les matériaux azotés passent rapidement, trop rapidement quelquefois, à l'état de sels ammoniacaux et de carbonate d'ammoniaque, et l'alcalinité plus ou moins sensible qui en résulte par la terre arable influe à son tour, comme nous allons le voir, sur la destruction des aliments hydrocarbonés, que nous n'avons pas encore envisagés à part et qui méritent pourtant d'attirer quelques instants l'attention.

Destruction des éléments hydrocarbonés dans le sol. — Pour tous ceux de ces éléments qui sont solubles dans l'eau, nous n'avons rien à ajouter aux notions que nous possédons déjà. Il est clair que leur dissémination dans un sol poreux et aéré en favorise la transformation rapide en eau et en acide carbonique. Les produits intermédiaires, en général acides, ne persistent pas longtemps, ainsi que le démontre la réaction normalement neutre ou alcaline de la terre arable, et finalement tout passe à l'état d'eau et d'acide carbonique. C'est cet acide carbonique provenant de l'action des ferments que M. Boussingault a retrouvé formant une proportion variable de l'air contenu dans le sol. C'est aussi cet acide carbonique produit d'une façon continue, qui est venu troubler les expériences dans lesquelles on a essayé de résoudre la question de savoir si les racines des plantes absorbaient l'acide carbonique du sol, ou consommaient au contraire de l'oxygène. Comme en fournissant de ce dernier gaz, on trouvait toujours de l'acide carbonique, on a pu l'attribuer à l'action de respiration des racines, tandis qu'il pouvait être seulement le résultat de l'action des ferments dont n'est exempt aucun sol naturel ou artificiel.

Quant à l'eau produite aussi par les combustions lentes exercées dans le sol, c'est une question qui n'est pas encore résolue et que je n'ai même trouvée posée nulle part, de savoir quel rôle elle joue dans la végétation. C'est un fait bien connu, que les terres riches en humus sont celles qui résistent le mieux à la sécheresse. Ces terres sont aussi les plus habitées par les ferments dont la puissance s'exalte pendant la sécheresse, et qui, en brûlant les matériaux du sol, y produisent journellement, aux dépens de l'aliment organique, des quantités d'eau qui ne peuvent être négligeables et qui interviennent certainement parmi les éléments de la résistance que toute terre organise contre les effets de la sécheresse.

La cellulose et les éléments insolubles dans l'eau disparaissent par un mécanisme légèrement différent. Elles ne peuvent, comme nous le savons, servir directement de substratum, dans la grande majorité des cas, aux espèces microscopiques. Peu d'espèces peuvent pousser dans un milieu ne renfermant que de la cellulose comme élément hydrocarbonné. Mais nous avons vu, à propos de l'*aspergillus niger*, que ces mêmes espèces, une fois poussées et en possession de tous leurs moyens d'action, peuvent brûler la cellulose avec laquelle on les met en contact, de sorte que la destruction des grandes quantités de cette substance que le sol et le fumier renferment se fait avec d'autant plus d'énergie qu'elle est mêlée à une plus grande quantité d'éléments solubles et nutritifs. C'est avec ces derniers que les microbes édifient leurs tissus, puis,

après avoir épuisé les matériaux nutritifs les mieux à leur convenance, ils portent leur action sur la cellulose et autres substances, qui se trouvent aussi détruites par voie oblique, latérale, mais toujours sous l'influence des infiniment petits.

Le résultat de toutes ces actions concomitantes, différentes les unes des autres, et portant sur des mélanges variables de matériaux divers, ne saurait évidemment avoir aucune homogénéité. Les produits que la terre arable laisse se dissoudre dans les solutions alcalines, acides ulmique, humique, géique, crénique, apocrénique, les produits alcalins, tels que l'humine et l'ulmine, qui se dissolvent dons les acides, peuvent avoir, au point de vue agricole, des propriétés qui les rendent intéressants; mais au point de vue purement chimique, ils constituent des individualités très douteuses. Ce sont les peptones du sol, qui sont même sans doute plus compliquées que les peptones de la digestion, parce que, en moyenne, la destruction y semble poussée plus loin, sans être arrivée aux termes extrêmes où tout se simplifie. Nous n'entrerons pas dans cette étude confuse et qui est en dehors de notre sujet; mais nous avons à nous faire une idée des différences qui apparaissent dans cette combustion végétale suivant qu'elle s'accomplit au libre contact ou à l'abri de l'air.

Combustion au contact de l'air. — Quand l'air est présent en quantités suffisantes, et suffisamment renouvelé, la combustion se porte également, ou à peu près, sur le carbone et l'hydrogène. Il peut y avoir transitoirement, soit augmentation dans la proportion de carbone dans la masse totale, soit diminution, par suite du choix que font les microbes à l'origine parmi les substances soumises à leur action, et qui les amène à détruire tout d'abord des substances plus ou moins riches en carbone que la moyenne ; ainsi, dans un mélange de cellulose, de sucre et d'alcool, ce serait le sucre qui serait atteint d'abord, puis l'alcool, puis la cellulose: mais, tout ce qui est accessible aux ferments finit par être brûlé. Il ne reste que les portions les plus incrustées des tissus végétaux, que les mucédinées transforment ensuite peu à peu. Les matières minérales déposées à l'état insoluble dans les tissus sont ainsi libérées et peuvent rentrer dans la circulation générale.

Dans ce mode de destruction, les matières albuminoïdes ou azotées fournissent du carbonate d'ammoniaque qui maintient la masse neutre, donne à l'ensemble une teinte plus ou moins foncée, en se combinant aux matières humiques qu'elle rend ainsi plus solubles. La pluie dissout alors plus facilement les matériaux déjà transformés et met à nu de nouvelles couches où les mêmes phénomènes recommencent. Saussure a remarqué le premier que de la sciure de chêne, épuisée par l'eau chaude, pouvait lui abandonner de nouvelles matières après avoir été abandonnée à elle-même au contact de l'air. 32 grammes de sciure, bouillie une demi-heure avec vingt-quatre fois son poids d'eau, ont abandonné 4gr,7 d'extrait; une seconde ébullition en a retiré 1gr,5, et les quantités d'extrait sont allées en décroissant jusqu'à la neuvième décoction qui en a fourni 0gr,212. La onzième et la douzième ont donné des quantités semblables. Après deux mois d'exposition à l'air, cette sciure épuisée a fourni 0gr,292 d'extrait, une quatorzième décoction en a fourni 0gr,211. Après deux mois d'expo-

sition nouvelle à l'air, le chiffre est remonté à 0gr,292, et les différences auraient encore été plus sensibles si à l'origine de chaque fermentation nouvelle, la sciure n'avait pas été épuisée des matières organiques solubles qui auraient pu servir de premier aliment aux ferments.

Dans la nature, les combustions sont en effet plus rapides et suffisent à faire disparaître dans un sol maintenu en bon état de fertilité, toutes les matières hydrocarbonées que les fumiers y apportent et que la végétation y laisse. Saussure le père avait bien vu que le terreau était entièrement destructible par l'action de l'air, en remarquant que la plaine fertile entre Turin et San Germano, qui est cultivée depuis plus de 3,000 ans, n'a nulle part une terre végétale d'épaisseur supérieure à un pied. Dans les jardins, les mêmes faits conduisent aux mêmes conséquences.

Ce n'est que dans les forêts, dans les points où le sol n'est pas aéré par les labours, où une couche de mousse ou de feuilles envahie par les végétations cryptogamiques couvre souvent le sol, que la matière organique privée d'oxygène par le tapis superficiel s'accumule dans les profondeurs. Le même phénomène se produit dans les terrains mal drainés ou mouillés en temps ordinaire, mais là la destruction de la matière organique n'est pas interrompue, elle se fait seulement d'après un mode spécial que nous allons apprendre à connaître.

Destruction à l'abri de l'air. — Ici il n'y a plus place pour un ferment aérobie. Les produits de la destruction de la matière hydrocarbonée sont de l'eau, de l'acide carbonique CO^2, et l'hydrogène protocarboné C^2H^4, qui d'après les expériences de Popoff, se dégagent à équivalents à peu près égaux, et sont dans leur ensemble moins riches en carbone, plus riches au contraire en oxygène et hydrogène que la matière organique dont ils proviennent. D'après les expériences de Boehm, cette fermentation avec dégagement de gaz des marais se produit surtout lorsque les plantes mortes ont récemment subi le contact de l'air. Les êtres qui y président paraissent donc avoir besoin à l'origine d'un peu d'oxygène, mais ils passent ensuite très facilement à la vie anaérobie, pendant laquelle ils dégagent des proportions variables de gaz de marais et d'acide carbonique. Quand on prolonge trop longtemps la vie anaérobie, il arrive souvent qu'une fermentation butyrique, avec dégagement d'hydrogène, succède à la fermentation qui donne le gaz des marais. Dans tous les cas, la cellulose, perdant de l'hydrogène, de l'acide carbonique CO^2, de l'hydrogène protocarboné dont on peut écrire la formule CH^2, perd à peu près deux fois plus de son oxygène et de son hydrogène que de son carbone. Fatalement, par conséquent, les matériaux incomplètement transformés qui restent dans le sol s'enrichissent de plus en plus en carbone et finissent par constituer de la tourbe d'abord, de la houille ensuite. Le mécanisme de cette transformation est incomplètement connu dans tous ses détails, mais il n'est pas douteux que dans son ensemble il ne soit régi par les causes que nous venons d'apprendre à connaître.

La formation de la houille nous apparaît donc comme l'œuvre des infiniment petits pendant les temps géologiques. Quand on songe quel rôle ils ont

joué dans le dépôt de certaines couches de craie ou de sables siliceux, et quand on se rappelle que nous avons eu le droit, dans un des chapitres qui précèdent, de leur attribuer la formation de filons ou de ces dépôts de sulfure si fréquents dans les couches de houille et ailleurs, il est impossible de ne pas être frappé de leur importance géologique.

BIBLIOGRAPHIE

Dr Moule. — The dry Earth-System. *The Lancet*, 1869.

Dr G. Rolleston. — The Earth-closet System. *The Lancet*, 1869.

Buchanan and M. Radcliffe. — On the dry System of dealing with excrement. *Reports of the medical officer of the Privy Council*, 1870 et 1874.

E. Vallin. — *Traité de la désinfection*. Paris, 1882.

Schlœsing et A. Durand-Claye. Rapport sur l'altération des cours d'eau et les moyens d'y porter remède. *Congrès international d'hygène, Comptes rendus*, p. 304.

J. Boehm. — Ueber Gährungsgase aus Sumpf- und Wasserpflanzen. *Sitzungsber. der K. Akad. d. Wissens.*, t. LXXI, 1875.

CHAPITRE LXXII

MOYENS PHYSIQUES DE DESTRUCTION DES GERMES

Arrivés au point où nous en sommes de notre étude, nous avons le devoir d'étudier les moyens d'éviter l'envahissement des êtres vivants ou des substances mortes par les infiniment petits. Ce sera à la fois la conclusion pratique de notre livre, et une porte ouverte sur le domaine de l'étude des maladies virulentes et contagieuses à laquelle ce livre, nous l'avons déjà dit, est destiné à servir d'introduction.

Les notions que possède la science sur cette question des désinfectants ou des antiseptiques sont d'ordinaire présentées sous une forme assez confuse, et cela pour deux raisons principales.

La première, c'est que beaucoup d'auteurs en sont restés à la définition étroite que comporte le sens vulgaire du mot putréfaction, et n'appellent de ce nom que les phénomènes dans lesquels il se produit des gaz putrides. Ils se trouvent par conséquent amenés à ranger parmi les procédés antiseptiques certaines pratiques, dont l'efficacité est médiocre à ce point de vue, et qui en tout cas ne vont nullement droit à la suppression des germes. Il est certain que la putréfaction arrive plus vite dans un air stagnant, dans une eau dormante, que dans un air ou un courant d'air sans cesse renouvelés. Mais on a évidemment tort de compter ce renouvellement dans la liste des moyens antiseptiques; on a d'autant plus tort que quelques instants après, dans cette même liste, et en se fiant à une fausse interprétation des expériences d'Appert qui est restée dans la science depuis Gay-Lussac, on est obligé de placer la soustraction absolue de l'oxygène. Il en résulte un trouble dans l'esprit quand on se demande comment la suppression absolue ou le renouvellement incessant de ce gaz peuvent conduire au même résultat.

Avec le sens que nous avons donné, dans les pages qui précèdent, au mot putréfaction, ces deux procédés apparaissent sous leur véritable jour. Le second, celui d'Appert, emprunte sa valeur, non à l'absence de l'oxygène, qui est un phénomène tout à fait secondaire, mais à l'action de la chaleur, et son étude doit être rapportée à ce chef. Le premier n'a aucune valeur, n'a pour effet que de favoriser la substitution des germes aérobies aux autres, et, lorsqu'il agit autrement, n'intervient que par un mécanisme qui lui est extérieur, par exemple

en produisant une dessiccation qui rend la vie des microbes plus difficile où même impossible. Mais par lui-même, il ne peut amener que des changements dans le mode d'envahissement sans rien changer à l'envahissement lui-même. A ce point de vue, ce que nous en avons dit dans le courant de ce livre suffit. L'action comburante que nous avons été conduits à reconnaître à l'oxygène est du reste trop lente pour pouvoir être employée comme moyen antiseptique ou moyen de purification, mais il y a des moyens de l'exalter. Nous ne parlerons que de ces moyens, ayant à cœur de ne traiter ici que des procédés qui vont droit et rapidement à la suppression de l'envahissement par les infiniment petits.

Sur cette question ainsi limitée, il règne encore une certaine incertitude, qui existe dans tous les traités sur la matière. On est tout surpris, quand on fait la lecture attentive de ces livres, de ne plus savoir à la fin ce qu'on doit penser ni croire. Toutes les expériences semblent se contredire, et leur récit conduit le lecteur au septicisme le plus absolu. Il n'est pas hors de propos de rechercher les causes de cette indécision. C'est le seul moyen de nous en préserver dans les pages qui suivent, et, dans une cetraine mesure, de la faire cesser.

Conditions d'une étude précise. — Toutes ou à peu près toutes les expériences contradictoires qui viennent s'opposer les unes aux autres ont été faites, lorsqu'elles ont été le mieux faites, en mettant dans les mêmes conditions deux liquides, deux infusions organiques, par exemple, l'une additionnée d'une dose déterminée d'antiseptique, l'autre intacte, et en comparant les résultats qu'elles fournissent au bout de quelque temps. C'est ce que les auteurs appellent des expériences comparatives. Il est facile de voir pourtant qu'il n'y a rien de moins comparatif.

L'établissement d'une putréfaction à un degré quelconque est en effet fonction d'une foule de circonstances, dont le plus petit nombre seulement se retrouve dans des conditions identiques dans les expériences dont nous parlons. L'égalité des quantités de matière organique et d'eau mises en expérience dans les divers cas, telle est la seule condition dont on se soit préoccupé dans la grande majorité des cas, et encore pas dans tous les cas. Il y en a bien d'autres dont il aurait fallu tenir compte.

La température d'abord, que peu d'expérimentateurs ont cherché à rendre constante. Or, suivant le degré auquel elle est portée, la température agit dans le même sens que l'antiseptique, ou bien en sens contraire. De là résulte que deux observateurs, travaillant dans des conditions en apparence identiques, peuvent ne pas être d'accord sur l'effet produit. De là résulte encore, comme cela est quelquefois arrivé, qu'un même observateur ne retrouve pas en été ce qu'il avait constaté en hiver. Il faut toujours, dans des expériences de cette nature, maintenir la température bien constante et bien en indiquer le degré. Un ou deux degrés de plus ou de moins peuvent, comme nous l'avons vu au sujet de l'aspergillus niger, soit communiquer à l'être vivant une activité telle qu'il triomphe des mauvaises conditions qui lui sont faites par la présence de l'antiseptique, soit lui faire suspendre ou arrêter son développement.

Ceci nous amène à une deuxième cause d'erreur. Les germes des microbes

ont besoin pour subir leur première évolution et arriver à la vie active, de conditions biologiques plus étroites que les êtres adultes. Le milieu qui convient aux uns, n'est pas toujours, comme nous l'avons vu, favorable aux autres. Par exemple, les quantités d'antiseptiques qui paralysent le premier développement des germes sont impuissantes en général à arrêter la vie des microbes en plein fonctionnement. Il faut donc bien spécifier à chaque fois si on opère sur des germes ou sur des adultes, et comme les matières employées renferment parfois l'un et l'autre à l'insu de l'observateur, il faut toujours se servir de liquides stérilisés d'avance, dans lesquels on introduit, pour l'expérience comparative, des quantités égales de germes ou d'adultes provenant de la même infusion.

Ces quantités à leur tour ne seront pas indifférentes, et c'est une troisième cause d'erreur à laquelle peu d'observateurs ont pensé. Nous avons vu, à propos de la levure de bière, que la quantité d'antiseptique à employer pour en paralyser l'action devait moins être rapportée au volume total du liquide qu'à la quantité de levure présente, et était en tous cas une fonction composée de ces deux variables. Les raisons de ce fait sont tellement évidentes qu'il est inutile d'insister. Concluons seulement qu'il faudra spécifier et identifier les quantités de semence dans tous les cas.

Après avoir pris toutes les précautions que nous venons d'indiquer, il restera encore à se garer de la plus puissante des causes d'erreur, celle qui résulte de la différence de nature des microbes entrant en action dans les diverses expériences. Lorsque, comme cela a eu lieu souvent, on laisse l'ensemencement se faire d'une façon spontanée dans les liquides soumis à l'expérience, le cas général est celui où les êtres qui pullulent dans les deux infusions dont on compare les résultats sont différents les uns des autres, le cas particulier et rare est celui où ils sont identiques. On court donc grand risque de n'avoir pas affaire aux mêmes espèces, soit dans les diverses expériences d'une série, soit dans deux séries d'expériences faites par le même observateur, soit dans les essais, identiques en apparence, de deux observateurs différents. Or, nous savons que toutes les espèces vivantes n'ont pas les mêmes besoins, ni les mêmes antipathies ; et dès lors, conclure des propriétés antiseptiques observées dans un cas à ce qu'elles doivent être dans un autre revient à faire un raisonnement comme celui-ci : le foin ne nourrit pas les porcs, donc il ne convient pas aux vaches. Il faudrait donc, ou plutôt il aurait fallu bien spécifier dans chaque expérience à quelles espèces on a affaire, parce que c'est ne dire rien de précis au sujet d'une substance que de dire qu'elle est ou non antiseptique, si on ne dit pas vis-à-vis de quelles espèces vivantes.

Cela ne suffit même pas, il faut dire en outre dans quelles conditions. L'espèce vivante étant définie, l'antiseptique aussi dans sa nature et dans ses proportions, la nature du liquide ne sera pas indifférente. S'il est peu nutritif pour le microbe, les proportions d'antiseptique actives pourront être abaissées sans inconvénient. Avec la même composition en matières organiques, il ne sera pas indifférent que le liquide soit acide ou alcalin. Nous avons vu, à propos de la levure, que l'acide salicylique agit très différemment suivant qu'on le fait agir dans un liquide acide comme le vin, ou neutre ou même alcalin comme la bière.

C'est que l'acide libre est plus actif que ses sels. Par contre, il y aura des cas où cette substance antiseptique très active favorisera au contraire le développement des microbes, parce qu'elle changera, comme acide, la réaction du liquide.

Enfin, c'est ici le cas de se rappeler ce que nous avons vu au chapitre XIII, au sujet des paralysants des diastases. Il existe des antiseptiques qui agissent activement sur les diastases pour en empêcher l'action, et qui peuvent dès lors gêner ou arrêter, suivant les doses, l'action des microbes dans certains liquides organiques et pas dans d'autres, empêcher par exemple des fermentations de sucre candi, et pas des fermentations de glucose. De là résulte que l'effet qu'on observe avec un antiseptique est souvent une action complexe, et qu'une étude complète devrait viser la question de savoir si l'antiseptique essayé est, ou bien un poison des diastases, ou un poison des êtres vivants, ou à la fois un poison des uns et des autres. Nous verrons au chapitre prochain que les antiseptiques les plus puissants agissent à la fois sur les cellules des microbes et sur les diastases qu'elles sécrètent.

Toutes ces considérations témoignent que l'étude des propriétés antiseptiques de diverses substances est loin d'être aussi simple qu'on pourrait le croire au premier abord, et ne peut être utilement abordée avec les procédés expérimentaux généralement usités jusqu'ici. Aux causes d'indécision qui résultent de la mauvaise installation des expériences déjà faites viennent s'ajouter celles qui résultent, dans quelques cas, de leur mauvaise interprétation.

Lorsqu'une infusion organique, traitée par un antiseptique, ne se trouble pas dans les jours qui suivent la mise en train, on conclut d'ordinaire qu'elle est stérile et on abandonne l'expérience, après en avoir tiré une conclusion formelle, c'est que l'antiseptique a agi. Il arrive pourtant souvent, comme nous le verrons, que l'infusion finit par se peupler. Elle y met d'autant plus de temps que la dose d'antiseptique est plus forte, mais elle n'est guère absolument stérilisée que pour des doses très supérieures à celles qu'on emploie d'ordinaire, et à celles qui seraient supportables dans la pratique.

On doit donc envisager surtout les antiseptiques comme des agents retardateurs de l'évolution des microbes, et de là résultent des différences profondes suivant qu'on les fait agir sur des microbes ensemencés dans des liquides inertes, ou bien introduits dans des tissus vivants.

Dans le premier cas, il n'y a à envisager que deux choses, le microbe et l'antiseptique qui en gêne le développement. Or, nous venons de dire tout à l'heure que l'action de ce dernier n'avait rien d'absolu, qu'en général, il occasionnait un retard, et ne stérilisait définitivement le liquide que dans certaines conditions, réalisables il est vrai quand on emploie la chaleur comme agent de stérilisation, presque toujours hors de portée quand il s'agit d'antiseptiques. Il ne faudra donc pas compter en général sur la destruction complète des germes et une préservation absolue. Cependant, quand il s'agit de préserver de la putréfaction des liquides inertes, on est en général maître de pousser plus loin les actions antiseptiques que lorsqu'il s'agit de tissus vivants.

Avec ceux-ci, il faut envisager, outre le microbe et l'antiseptique, les cellules de l'organisme où se fait l'ensemencement ou l'inoculation. Ici, le milieu d'im-

plantation n'est plus inerte, les cellules résistent, et ajoutent leur action à celle de l'antiseptique. Les difficultés que rencontre le microbe dans son premier développement, au lieu d'être comme tout à l'heure un simple retard, peuvent assurer son élimination définitive, par suite des phénomènes de combustion, de digestion ou de résorption qu'il subit au point d'inoculation, de sorte que la stérilité d'un ensemencement dans l'organisme peut être assurée par des doses d'antiseptiques bien plus faibles que celles qui seraient nécessaires dans un liquide inerte. Cela est heureux, car les limites pratiques dans l'emploi des antiseptiques sont bien plus étroites dans le cas de l'organisme que dans celui des infusions organiques.

On voit que les deux modes d'ensemencement obéissent à des nécessités diverses, et qu'il est toujours imprudent de conclure de l'un à l'autre, d'arguer, comme le fait M. Koch dans un mémoire récent, des doses d'antiseptiques nécessaires pour stériliser un liquide, à l'impossibilité de les employer dans les inoculations sur les êtres vivants. La préservation des tissus vivants est en général plus facile que celle des infusions organiques, parce qu'il y a une résistance en plus. En échange, lorsque l'invasion est faite, elle est tout aussi difficile à arrêter dans un cas que dans l'autre. S'il y avait une différence, elle serait au désavantage de l'organisme, car le fait de l'implantation d'un parasite dans un être vivant, malgré les résistances qu'il y rencontre à l'origine, témoigne qu'il y trouve de très bonnes conditions de milieu qui rendent son expulsion difficile. Nous ne connaissons encore, pour arriver à ce résultat, que l'action des forces naturelles, dont nous verrons quelques-unes à l'œuvre avant la fin de ce livre. Elles peuvent être aidées par l'action des antiseptiques, mais c'est là le seul service que dans l'état actuel de nos connaissances nous puissions demander à cette catégorie de substances, qu'il ne faut par suite ni trop dédaigner ni trop exalter.

C'est avec cet ensemble de notions que nous allons aborder l'étude des moyens qui peuvent s'opposer à l'évolution des ferments. Nous diviserons en deux grands groupes les procédés qui ont été employés jusqu'ici pour cela, ceux dans lesquels on fait intervenir des agents physiques, le froid, la chaleur, la dessiccation, ceux dans lesquels les agents sont surtout de l'ordre chimique et appartiennent à la classe des désinfectants ou des antiseptiques.

Froid. — L'emploi du froid comme agent de conservation des substances animales ou végétales est connu depuis longtemps, et nous ne nous y arrêterions pas, si nous n'avions pas à poser nettement à ce sujet quelques questions qui ont été souvent confondues. Le froid tue-t-il les germes, ou arrête-t-il seulement leur développement?

L'exemple célèbre du mastodonte trouvé en 1799 sur les bords de la mer Glaciale, près de l'embouchure de la Léna, et qui avait conservé depuis les temps géologiques ses chairs et sa fourrure, témoigne que la conservation par l'action du froid peut être indéfinie. Les doutes que pourrait faire naître le caractère exceptionnel de ce fait, s'il était resté unique, ont été dissipés par la découverte faite depuis, sur les mêmes côtes, entre la Léna et la Kolyma, de milliers d'élé-

phants, de rhinocéros, de buffles, en bon état de conservation, grâce à leur ensevelissement dans le sol glacé de ces régions.

On en a conclu que le froid était un désinfectant, et la confiance à ce sujet a même été telle, à un moment, qu'on s'est servi du froid comme agent à peu près unique de désinfection de navires en quarantaine de fièvre jaune. Il existait pourtant dans la science des faits qui n'autorisaient guère une conjecture aussi hardie et qui, à l'expérience, s'est montrée aussi inexacte. Cagniard-Latour avait vu la levure résister au contact de l'acide carbonique solidifié. Les travaux de M. Melsens et de M. Schumacher, dont nous avons parlé à la p. 358, parlent dans le même sens.

Depuis, Frisch a montré des morceaux de viande putréfiée, soumis à une température qui est descendue à 87° au-dessous de zéro, ont continué à se putréfier après avoir été ramenés à la température ordinaire. Il a fait voir aussi que l'inoculation d'une sérosité péritonéale refroidie au même degré était tout aussi dangereuse qu'avant. Il dit même qu'au moment du dégel les bâtonnets et les vibrions se montrent animés de mouvements assez vifs au moment où ils se dégagent du glaçon qui les emprisonne.

M. Pasteur est arrivé à des conclusions analogues en exposant des semences de ferments à des froids de 30°, pendant l'hiver 1879-1880. Depuis, M. Gibier a trouvé qu'un froid de — 45°, prolongé pendant 5 heures, n'empêchait pas certains microbes virulents, tels que la bactéridie charbonneuse, le vibrion septique, le microbe du charbon symptomatique, d'être inoculables dans l'organisme, ce qui exige, comme nous l'avons fait remarquer plus haut, un degré de vitalité de plus que l'ensemencement dans un liquide nutritif. Le microbe du choléra des poules périt vers — 35°, au bout de 3 heures environ.

On peut donc conclure, pour répondre à la question que nous nous sommes posée plus haut, que le froid immobilise les germes, mais ne les tue pas d'ordinaire, et, au moins pour les températures auxquelles on a opéré jusqu'ici, ne semble même pas produire sur eux les phénomènes d'atténuation que nous allons constater dans l'action de la chaleur.

A ce point de vue, il serait intéressant d'ensemencer à l'intérieur d'un liquide organique convenable, et à l'abri des germes extérieurs, un peu de la matière intestinale de l'un de ces mammouths dont nous parlions plus haut. Il est probable qu'il n'y aurait aucun développement, mais cela n'est pas sûr; et si on en observait un, il serait curieux de voir à notre époque des descendants directs et immédiats de microbes des temps géologiques, qui partout ailleurs ont été détruits.

Chaleur. — La pratique, déjà ancienne, des cultures dans les ballons Pasteur qu'on stérilise à l'avance par l'action de la chaleur, témoigne qu'en aucun cas, dans un vase convenablement chauffé, il ne reste de germes. Les études directes faites sur cette question ont montré que l'action d'une température de 140° prolongée pendant quelques minutes suffit, dans l'immense majorité des cas, à stériliser un matras. Cependant, dans des expériences faites à l'Office sanitaire impérial de Berlin, MM. Koch, Gaffky, Loeffler et Wolfhugel ont trouvé des germes résistant pendant plus de deux heures à une chaleur sèche de

150 degrés. Mais les dispositions prises par ces savants pour l'évaluation des températures autorisent à croire à une erreur d'expérience. On reste en tous cas dans des conditions pratiques et reconnues suffisantes par des milliers d'observations, en admettant que l'action d'une température sèche de 140°, prolongée pendant cinq minutes, est suffisante comme moyen de stérilisation des corps solides.

Cette température, qui est couramment employée au laboratoire de M. Pasteur pour la stérilisation des matras d'expérience, serait trop élevée pour les usages pratiques de la désinfection des vêtements et de la literie dans le cas de maladies contagieuses. Elle risquerait de détériorer les étoffes de coton et détériorerait sûrement les étoffes de laine. Mais on peut la diminuer en augmentant la durée d'exposition. Dans des expériences faites à l'hôpital Moabit, à Berlin, M. Werner a vu des boules d'ouate, imprégnées de liquides putrides et portées pendant une heure dans une étuve sèche à 125°, après avoir été entourées de plusieurs couches d'ouate neuve, ne plus pouvoir féconder des liquides organiques où on les ensemençait. Une exposition d'une heure à 125° peut donc suffire à atteindre et à tuer les germes des vêtements et de la literie.

On peut, du reste, se dispenser de chauffer autant en employant la chaleur humide au lieu de la chaleur sèche. D'après MM. Koch, Gaffky et Loeffler, il suffit d'exposer les tissus à une température de 100 à 105°, pendant dix ou quinze minutes, pour les stériliser complètement, lorsque la chaleur est humide. L'inconvénient de cette méthode est que les vêtements sortent mouillés de l'étuve, et ont besoin d'une dessiccation ultérieure.

Nous allons retrouver cette différence de la chaleur sèche et de la chaleur humide dans les essais de stérilisation des virus. Le virus vaccin a été naturellement le plus étudié, à cause de la facilité avec laquelle on se le procure et de celle qu'il y a à faire, avec lui, des expériences assez nettement comparatives, en inoculant sur le bras ou les deux bras d'un même individu le vaccin chauffé et non chauffé, de façon à éliminer toutes les causes d'erreur relatives à la mauvaise qualité du vaccin, ou à la non réceptivité de l'individu inoculé. Cette méthode, inaugurée par Baxter, a été suivie par tous ceux qui ont étudié le même sujet ou des sujets analogues.

Baxter a opéré sur du vaccin à l'état sec, recueilli sur des aiguilles d'ivoire qu'on roulait dans du papier et qu'on introduisait, avec un thermomètre, dans un tube qu'on chauffait au bain-marie. Après une exposition de vingt-trois minutes à une température de 75-80°, Il n'y avait encore aucune différence entre le vaccin chauffé et l'autre. Après une exposition de vingt-cinq minutes, à une température de 90-95°, le vaccin chauffé s'est montré stérile, tandis que l'autre produisait à peu près autant de vésicules qu'on en avait fait de piqûres.

MM. Carsten et Coert ont opéré, au contraire, sur du vaccin frais, qu'ils recueillaient dans des tubes et chauffaient à des températures diverses. Leurs expériences, assez nombreuses et bien conduites, peuvent se résumer ainsi :

Le vaccin animal frais, chauffé trente minutes à 64°5, perd sa virulence. Il la conserve après un chauffage de même durée, à 52°. Mais il ne semble guère pouvoir supporter une température de 54°.

C'est une température assez peu élevée, et on a le droit de se demander si les

auteurs n'avaient pas rencontré, à leur insu, des phénomènes d'atténuation des virus sous l'influence de la chaleur, comme ceux que nous allons rencontrer tout à l'heure. La même objection se soulève contre les expériences suivantes de M. Davaine, faites sur la bactéridie charbonneuse.

En agissant sur des dilutions de bactéridie très étendues, circonstance qui est loin d'être insignifiante, M. Davaine en avait obtenu la stérilisation en cinq minutes à 55°, en dix minutes, à 50°, en quinze minutes, à 48°. Il justifiait cette stérilisation en inoculant cette dilution et en montrant que l'animal résistait. Mais il pouvait très bien se faire que la bactéridie fût seulement atténuée, sans être morte. C'est ce que prouvent les expériences de M. Toussaint et celles de M. Chauveau.

M. Toussaint chauffe quelques minutes du sang charbonneux à 50°, l'inocule ensuite comme le faisait M. Davaine, mais il constate, de plus que lui, que cette inoculation ne passe pas inaperçue et laisse l'animal vacciné. La bactéridie n'était donc pas morte, elle était atténuée comme nous l'avons vu qu'elle l'était par une culture à 42 et 43°.

Les expériences de M. Chauveau ont précisé plus nettement les effets de la chaleur dans ces conditions. Pour les rendre les plus nets possibles, il faut opérer sur le sang d'un animal mort récemment du charbon, trente-six ou quarante-huit heures après le moment de l'inoculation : c'est le moment où les bactéridies sont le plus homogènes dans leur aspect et dans leurs propriétés. Il faut encore que toutes les parties de ce sang soient également impressionnées par le chauffage. On arrive à ce résultat en le chauffant dans des tubes effilés, de 1 millimètre au plus de diamètre.

On retrouve alors, à propos de l'atténuation de la bactéridie, cette loi de variation inverse entre la durée du chauffage et son intensité que nous avons tant de fois constatée, quand nous demandions à la chaleur la destruction des microbes. Un très court chauffage, de neuf à dix minutes, à 53°-54°, suffit à tuer la bactéridie, ou du moins à la rendre incapable de se développer dans l'organisme. Cela ne prouve pas, comme nous l'avons dit plus haut, qu'elle soit morte, mais son inoculation ne laisse pas l'animal vacciné. M. Chauveau a au contraire parfois obtenu des vaccins en chauffant huit, sept, six et cinq minutes à 54°.

A 52°, il faut quinze à seize minutes de chauffage pour supprimer la virulence; avec quatorze minutes, la batéridie ressort très atténuée. L'atténuation est de moins en moins marquée à mesure qu'on chauffe moins.

A 50°, il faut vingt minutes pour détruire la virulence. A dix-huit minutes on a un excellent vaccin, l'atténuation est encore marquée après dix minutes, mais elle n'est plus suffisante pour donner un vaccin absolument inoffensif.

On voit que c'est par degrés succesifs que la virulence et la vitalité disparaissent. Mais il reste toujours à résoudre la question de savoir si à 55°, au moment où la bactéridie ne se développe plus suffisamment dans l'organisme pour laisser l'animal vacciné, elle est morte, ou bien si elle est simplement empêchée de se développer par la résistance des cellules de l'organisme. On ne peut résoudre cette question qu'en l'ensemençant après chauffage, non dans les tissus d'un animal, mais dans un liquide inerte et approprié à son développement.

Pour les raisons que nous connaissons, cette méthode est bien supérieure, comme valeur probante, à celle de l'inoculation. Il est probable qu'on trouverait que cette bactéridie chauffée à 55° est encore vivante, et qu'il faudrait la chauffer davantage ou plus longtemps pour la tuer. On rencontrerait sans doute à plus haute température des phénomènes analogues à ceux que M. A. Fitz a constatés à propos de la diminution du pouvoir ferment dans son *bacillus butyricus*, et qui sont vis à vis d'un liquide inerte l'équivalent de l'atténuation vis à vis des inoculations dans l'organisme.

Dessiccation. — La vie des ferments exige la présence d'une certaine quantité d'eau. Elle est impossible sur les corps parfaitement desséchés, c'est ce dont témoigne l'existence des momies, du foin, des conserves de viandes et de légumes secs; elle est impossible aussi dans des liqueurs suffisamment concentrées et douées de propriétés endosmotiques assez puissantes pour modifier la constitution des sucs cellulaires, c'est ce dont témoigne l'existence des extraits, confitures, sirops, laits concentrés, etc. Mais la dose minimum d'humidité dont se contentent les microbes est variable de l'un à l'autre. L'expérience journalière nous apprend que des mucédinées, des végétations superficielles peuvent pousser sur des confitures qui restent parfaitement intactes dans leur intérieur, sur des corps solides dont la surface est à peine humide. Le mycélium de ces plantes paraît pouvoir se contenter de très peu sous ce rapport; et il est bien possible que la puissance comburante active dont il est le siège lui prépare, peu à peu, l'eau nécessaire à l'entretien des tissus, comme nous l'avons vu au chapitre LVI, à propos des phénomènes de vie dans l'huile.

Quoi qu'il en soit, un moyen de préserver les substances organiques, liquides ou solides, de l'envahissement des ferments, est de les dessécher à un degré suffisant, variable de l'une à l'autre. Il est inutile de passer en revue les diverses industries où cette notion se trouve utilisée ; elle est une des plus simples que nous ayons à rencontrer, et nous n'insisterons pas davantage sur son étude, parce qu'il est impossible de dire à son sujet autre chose de général que ce que nous avons dit. Il faudrait, pour aller plus loin, entrer dans des détails qui nous feraient sortir du cadre de ce livre.

Nous ne visons pas non plus, dans cet exposé, les résultats de la dessiccation appliquée aux microbes ou aux virus eux-mêmes. Du moins, ses résultats se sont toujours trouvés mêlés à ceux de l'oxydation qui semble beaucoup plus puissante et que nous retrouverons à propos de l'étude de l'oxygène.

BIBLIOGRAPHIE

Frisch. — Uber den Einfluss niederer Temperaturen auf die Lebensfahigkeit der Bakterien. *Sitzungsber der K. Akad. d. Wissens.*, t. LXXV, 3e p., p. 257, et *Revue d'hygiène*, 1879, p. 166.

R. Koch et G. Wolfhugel. — Untersuchungen über die Desinfection mit heisser Luft. *Mittheil. aus dem Kais. Gesundheitsamte*, t. I, 1881.

Koch, Gaffky et Lœffler. — Versuche über die Verwerthbarkeit heisser Wasserdampfe zu Desinfections zwecken. *Id.*, 1881.

MERKE. — Zu Desinfections-Einrichtung im Städtischen Baraken-Lazareth zu Moabit. *Wirchow's Archiv.*, 24 septembre 1879, et *Revue d'hygiène*, 1879.

BAXTER. — Report on an experimental study of certain desinfectants. *Appendix to the Report of the medical officer of the Privy Council.* t. VI, 1875.

B. CARSTEN et J. COERT. — La vaccination animale dans les Pays-Bas. *Congrès d'Amsterdam de* 1879. La Haye, 1879, et *Revue d'hygiène*, 1879.

VALLIN. — *Traité des désinfectants et de la désinfection.* Paris G. Masson, 1882.

CHAUVEAU. — Etude expérimentale sur les conditions qui permettent de rendre usuel l'emploi de la méthode de M. Toussaint, pour atténuer le virus charbonneux et vacciner les espèces animales sujettes au sang de rate. *Comptes-rendus*, t. VCIV, p. 1694.

CHAPITRE LXXIII

ÉTUDE DES ANTISEPTIQUES

Nous allons passer en revue, dans ce chapitre, les divers moyens, d'ordre chimique, à l'aide desquels on peut essayer de ralentir ou d'arrêter le développement des ferments. Ces moyens sont nombreux, et il serait utile de pouvoir mettre un peu d'ordre dans leur étude. On le pourrait si on savait comment ils agissent, et par quel mécanisme, variable certainement de l'un à l'autre, ils arrivent à produire, plus ou moins bien, l'effet qu'on leur demande. L'étude de ces mécanismes divers amènerait certainement à établir une classification rationnelle. Mais cette classification est aujourd'hui impossible. Après avoir étudié toutes celles qui ont été proposées jusqu'ici, je ne vois aucune raison de ne pas les traiter toutes de la même manière, et de ne pas leur préférer l'ordre alphabétique, qui a au moins l'avantage de faciliter les recherches, et qui n'est pas plus artificiel que tous ceux qui ont été employés.

C'est celui que nous allons suivre. Toutefois, lorsque les propriétés antiseptiques des divers membres d'une même famille chimique pourront être ramenées à celle de l'un de leurs éléments, c'est au nom de cet élément qu'on trouvera l'étude de la série. Ainsi les propriétés des salicylates divers résultent surtout de l'acide salicylique ; celle des divers sels de mercure, du métal commun qu'ils contiennent. C'est donc aux mots acide salicylique et mercure qu'on trouvera l'étude de leurs propriétés. On trouvera de même à propos du chlore l'étude du brôme et de l'iode qu'il est impossible de séparer du chef de la famille. C'est à peu près là le seul côté par lequel on puisse glisser dans cette étude des considérations de théorie, et on voit qu'il nous est facile d'en tenir compte.

Si toutes les expériences faites pour apprécier l'action des antiseptiques avaient été faites dans des conditions comparables, elles permettraient de ranger ces corps par ordre de puissance. Mais ces expériences ont été faites dans les conditions les plus variées. Quelques-unes sont absolument dénuées de toute force probante. Dans d'autres, les dosages d'antiseptiques sont très incertains. On y lit par exemple que tel liquide a été exposé à un air saturé de chlore, sans que l'auteur paraisse se douter que de l'air saturé de chlore est du chlore pur. D'ailleurs, une pareille classification par ordre de puissance des antiseptiques est impossible, et nous avons dit pourquoi au chapitre précédent. L'ordre

à propos d'une espèce déterminée ne serait pas le même à propos d'une autre. Comme nous l'avons vu, le caractère antiseptique n'est défini qu'autant qu'on indique à la fois le nom de la substance active et l'espèce vivante sur laquelle on la fait agir.

Toutefois, nous trouvons dans un intéressant travail de Jalan de la Croix quelques renseignements généraux qui peuvent nous être utiles, et qui ont été obtenus dans des conditions qui les rendent à peu près comparables. Tous ne sont pas aussi valables à ce point de vue : les expériences dans lesquelles M. Jalan de la Croix a recherché les doses d'antiseptiques empêchant l'apparition des microbes dans le jus de viande cuit ou le jus de viande cru pèchent par le défaut absolu de comparabilité dans les conditions de l'expérience, et dans la nature des germes qui se développent dans ces deux cas. Il y a précisément, dans cette partie des résultats de Jalan de la Croix, des bizarreries et des contradictions qu'on ne peut rapporter qu'à cette origine. Nous laisserons de côté tous les nombres obtenus dans ces conditions.

La partie la plus importante de ces expériences a été faite en introduisant dans deux liquides de culture pareils, A et B, faits de jus de viande cuit, quelques gouttes d'un bouillon identique, renfermant des bactéries en plein développement, et en cherchant: A, quelles étaient les doses d'antiseptiques qui arrêtaient l'envahissement du liquide; B, quelles étaient les doses qui tuaient les bactéries en plein développement dans ce bouillon. Ce procédé assure dans une certaine mesure l'homogénéité des espèces vivantes sur lesquelles on opère, et fournit, aussi dans une certaine mesure, la réponse aux deux questions suivantes : 1° Quelles sont les doses qui empêchent le développement ; 2° Quelles sont celles qui l'arrêtent lorsqu'il est commencé ? Les secondes doivent être toujours, nous le savons, supérieures aux premières.

Une autre partie des essais de M. Jalan de la Croix mérite moins de confiance. Il a cherché à savoir quelle étaient les doses d'antiseptiques à introduire dans un liquide peuplé de germes pour que l'introduction d'une goutte de ce liquide dans un liquide neuf et stérilisé n'y apporte pas la fécondité. Le liquide dans lequel il ajoutait l'antiseptique était tantôt le bouillon cuit A des expériences précédentes, où une première dose d'antiseptique avait empêché le développement des bactéries ensemencées, tantôt le bouillon B des mêmes expériences où les bactéries avaient été arrêtées en plein développement. Les doses d'antiseptiques nécessaires pour amener ces deux résultats n'avaient pas été suffisantes pour empêcher une goutte des liquides A et B d'apporter la vie dans une infusion nouvelle, parce que les bactéries n'étaient pas tuées, mais étaient seulement immobilisées par la dose d'antiseptique introduit, et il fallait une quantité supérieure de cet antiseptique pour tuer définitivement les êtres vivants présents dans la liqueur.

Ces expériences ne sont pas absolument comparables, parce que la quantité de semence apportée dans le bouillon neuf n'était pas la même dans les deux liquides, dont le premier, A, ne renfermait que les bactéries qu'on y avait introduites, dont le second, B, était au contraire peuplé par un premier développement. A cette première cause d'erreurs dans l'expérience, Jalan de la Croix ajoute une erreur d'interprétation : il admet que la stérilisation initiale des

liquides A et B y avait tué les adultes et n'y avait laissé que les germes, de sorte que c'est à la destruction de ces germes qu'il rapporte les doses d'antiseptiques nécessaires pour provoquer la complète stérilisation de A et de B. Rien ne prouve qu'il en soit réellement ainsi. Il a dû y avoir, dans ces deux cas, des mélanges d'adultes et de germes très inégalement résistants, et il en résulte une nouvelle cause d'incertitude dans les résultats. Quoi qu'il en soit du reste, on peut admettre *a priori* que les doses d'antiseptiques efficaces dans ces deux cas ne doivent présenter entre elles que les différences qui tiennent à la différence du nombre des êtres vivants. Ces différences doivent être toujours dans le même sens, s'il n'est pas intervenu dans la constitution du liquide B, par suite de son invasion poussée très loin, des modifications de constitution ou même seulement de réaction aux papiers colorés. Or, dans les résultats de Jalan de la Croix, les différences sont tantôt positives, tantôt négatives, et de plus assez variables. Ceci empêche de leur accorder une confiance absolue. Toutefois nous conserverons la deuxième série de ces résultats, ceux qui se rapportent à la dose d'antiseptique nécessaire pour la stérilisation complète du bouillon B, après avoir fait explicitement nos réserves sur la véritable signification des nombres qui les représentent.

Cela posé, voici le tableau résumant les résultats. Les nombres qu'il contient sont évalués en $\frac{1}{100{,}000}$ du volume du liquide, c'est-à-dire qu'ils représentent le nombre de milligrammes de chaque substance à employer par litre de liquide, pour obtenir le résultat signalé.

La première colonne donne les doses qui empêchent (I) ou n'empêchent pas (II) l'invasion du bouillon A, ensemencé directement avec quelques gouttes de bouillon déjà envahi.

La deuxième colonne (B) donne les doses qui arrêtent (I) ou n'arrêtent pas (II) le développement des bactéries dans le bouillon B, additionné d'antiseptique lorsqu'il est en pleine fermentation.

La troisième colonne donne les doses d'antiseptique qui stérilisent définitivement (I) ou ne stérilisent pas (II) le même bouillon B. On a partout *arrondi* les chiffres donnés par Jalan de la Croix. Il est en effet inutile de mettre dans le compte rendu des expériences plus de précision que les expériences n'en comportent.

Antiseptiques (Corps purs).	A Doses qui I empêchent.	A Doses qui II n'empêchent pas.	B Doses qui I arrêtent.	B Doses qui II n'arrêtent pas.	C Doses qui I stérilisent.	C Doses qui II ne stérilisent pas.
Sublimé corrosif	40	20	170	154	80	66
Chlore	33	26	44	33	2,320	2,170
Chlorure de chaux à 98°	90	76	268	224	5,880	3,875
Acide sulfureux	155	117	500	200	5,265	3,660
Acide sulfurique	170	120	500	300	8,620	4,900
Brôme	155	126	392	250	2,975	1,820
Iode	200	150	646	500	2,440	1,960
Acétate d'alumine	235	184	2,350	1,200	15,620	10,870

Antiseptiques (Corps purs).	A Doses qui I empêchent.	A Doses qui II n'empêchent pas.	B Doses qui I arrêtent.	B Doses qui II n'arrêtent pas.	C Doses qui I stérilisent.	C Doses qui II ne stérilisent pas.
Essence de moutarde.	300	175	1,690	1,220	35,700	25,000
Acide benzoïque.	350	250	2.440	1,960	8,265	4,760
Borosalicylate de soude. . .	350	264	13,890	9,090	33,330	20,000
Acide picrique	500	330	1,000	700	6,660	5,000
Thymol.	745	450	9,175	4,715	50,000	27,780
Acide salicylique.	1,000	893	16,660	12,820	—	28,570
Hypermanganate de potasse.	1,000	700	6,660	5,000	6,660	5,000
Acide phénique.	1,500	1,000	45,450	23,810	376,000	250,000
Chloroforme	11,110	8,930	8,930	7,460	—	1.250,000
Borax	16,140	12,990	20,830	14,500	—	83,350
Alcool	47,620	28,570	227,300	166,600	—	847,500
Essence d'eucalyptus.	71,400	50,000	8,900	4,800	—	171,500

On voit qu'avec ces quatre derniers corps, pour les bactéries présentes dans les liquides de Jalan de la Croix, la stérilisation des liqueurs ensemencées n'est possible que pour des doses énormes. Rien ne montre mieux ce que ces résultats ont de contingent, car nous savons que le chloroforme et le borax sont quelquefois des antiseptiques très puissants. Malgré cela, nous trouverons quelque intérêt à rapprocher les nombres de ce tableau de ceux que nous fournira l'étude particulière des antiseptiques qui y sont mentionnés, et dont nous allons commencer la revue.

Acide acétique. — Si nous commençons par mentionner l'acide acétique, c'est pour faire remarquer que l'on peut protéger contre l'invasion des microbes certaines substances, comme par exemple les légumes, en les entourant de vinaigre, c'est-à-dire d'un corps produit par d'autres classes d'infiniment petits. Cette remarque forme une préface excellente à nos études.

Quant à l'efficacité réelle de l'acide acétique comme antiseptique, elle résulte surtout de l'acidité que ce corps apporte dans les substances avec lesquelles on le mêle. On peut rapporter à la même cause l'utilité douteuse encore des fumigations d'acide acétique.

Acétate d'alumine. — Dans le tableau des expériences de Jalan de la Croix, l'acétate d'alumine occupe un bon rang: 235 milligrammes suffisent à stériliser 1 litre de bouillon ensemencé de bactéries ; quand ce bouillon est envahi, il faut dix fois plus d'antiseptique. D'après Kuhn, il n'en faut que 200 milligrammes par litre pour stériliser une infusion de pois, et 125 pour une infusion de blanc d'œuf. Ces doses sont tout à fait pratiques. La dose de 15 grammes par litre, trouvée nécessaire par Jalan de la Croix, pour stériliser définitivement un bouillon envahi, est aussi une dose acceptable, non pas, bien entendu, comme moyen de conservation de substances alimentaires, mais comme moyen de s'opposer à la putréfaction. On comprend très bien, avec ces chiffres, l'utilité des injections de la dissolution d'acétate d'alumine à 18° B, employée par Gannal à l'embaumement et à la conservation des cadavres.

Acide azotique. — Les acides agissent comme antiseptiques à la fois en vertu de leur rôle chimique d'acides et en vertu de leur nature particulière. Nous avons rencontré tout à l'heure, et nous retrouverons bientôt à propos de l'acide chlorhydrique, l'étude du rôle acide. A propos de l'acide azotique, nous avons surtout à envisager le rôle de ce corps comme agent d'oxydation.

Les facultés oxydantes de cet acide ont été utilisées de façons bien diverses. La présence d'une trace d'acide nitrique dans une solution organique arrête l'évolution d'un grand nombre de microbes et en hâte la destruction. Quand il s'agit de désinfecter des locaux au moyen de vapeurs de cet acide, on peut ou bien le transformer en bioxyde d'azote en le faisant agir sur de la tournure de cuivre, ou bien le dégager directement dans l'atmosphère en traitant dans des vases convenables du salpêtre par de l'acide sulfurique. Ces dernières fumigations portent le nom de fumigations de Smith, et sont encore d'un fréquent usage en Angleterre. Elles paraissent agir beaucoup moins vivement sur les organes de la respiration que les fumigations d'acide hypoazotique, qui ont quelquefois amené des bronchites graves. Leur action très vive sur les tissus, les métaux, témoigne qu'elles peuvent oxyder et détruire avec rapidité les matières organiques en suspension dans l'air. Sternberg a du reste constaté que 1 volume de vapeurs rutilantes dans 100 volumes d'air stérilisait le virus vaccin après six heures d'exposition. 1/2 volume p. 100 suffit non seulement à rendre stérile une urine chargée de bactéries, mais à la rendre incapable de fertiliser une urine stérile. Un volume sur 400 d'air est resté inerte. Cette énergie est sans doute en rapport avec ce fait que l'acide hypoazotique, après avoir cédé son oxygène, se transforme en bioxyde d'azote qui reprend de l'oxygène à l'air, de sorte que l'action oxydante peut, théoriquement au moins, recommençer d'une façon indéfinie. Il faut rapprocher de cette action de l'acide azotique celle des cristaux des chambres de plomb que MM. Girard et Pabst ont proposé d'employer à la désinfection des matières et des locaux putrides. La décomposition lente de ces cristaux verse dans l'air des composés nitreux dont l'action désinfectante paraît être notable, et qui affectent moins les organes de la respiration que l'acide azotique ou le bioxyde d'azote. Léther azoteux paraît pouvoir aussi rendre des services

Acide benzoïque et benzoates. — Les essais de Jalan de la Croix résumés plus haut concordent avec ceux de Salkowski pour placer l'acide benzoïque, comme antiseptique, à un niveau plus élevé que l'acide salicylique et l'acide phénique. Les expériences de M. Hamlet, faites aussi sur du bouillon additionné de bactéries, placent au contraire l'acide benzoïque parmi les corps qui ne produisent aucun effet à la dose de 5 p. 100, tandis qu'à cette même dose les acides salicylique et phénique gênent le développement des bactéries, s'ils n'en arrêtent pas d'une façon absolue la multiplication. Il faut probablement accuser de ces différences, soit des différences dans la nature des bactéries entrées en action, soit des différences de température. Mais tout cela montre bien le caractère contingent des essais.

Cependant l'acide benzoïque paraît avoir rendu des services dans le traitement du catarrhe de la vessie consécutif à la fermentation ammoniacale des

urines. Administré par les voies digestives, il fait diminuer la proportion de l'urée dans l'urine et augmenter celle de l'acide hippurique. Le ferment de l'urée, au lieu de fournir du carbonate d'ammoniaque, donne, en dédoublant l'acide hippurique, des substances sans action sur la muqueuse de la vessie, et peu à peu l'inflammation diminue pendant que l'urine reprend sa réaction normale.

D'après Wernitz, l'acide benzoïque est aussi un paralysant des diastases à des doses variant de 400 à 2,500 milligrammes par litre.

Acide borique et borates. — Ces corps ont été très étudiés depuis que M. Dumas a, en 1872, appelé l'attention sur leur valeur comme antiseptiques et paralysants des diastases. Antérieurement pourtant, en 1856, Jacquez avait montré que des viandes se conservent très bien dans une solution de borax à 5 p. 100, et que l'injection de cette solution, mélangée à une autre solution à 10 p. 100 de borate d'ammoniaque, dans le système vasculaire d'un lapin, assurait la conservation du cadavre de l'animal.

Ces essais ont été souvent renouvelés depuis, avec une assez grande constance dans les résultats, mais avec des différences dans les doses actives qu'il serait curieux de relever si, au point où nous en sommes, ce n'était absolument inutile. La meilleure preuve de l'efficacité générale de l'acide borique est la place qu'il a su prendre dans l'industrie. On vend maintenant un sel dit *de conserve*, où le borate de soude entre pour moitié, et dont le Comité consultatif d'hygiène a accepté l'emploi pour la conservation des denrées alimentaires, après un intéressant rapport de M. Bouley.

Il semble en effet prouvé que l'acide borique peut être parfaitement toléré par l'organisme humain. Le Dr Capelli, directeur du Manicome de Frégionaia, a administré à des aliénés des doses journalières de 4 grammes d'acide borique pendant vingt-trois jours, et de 2 grammes durant quarante-cinq jours, sans voir survenir d'altération dans la santé des malheureux ainsi traités. Il a noté que leur urine était devenue beaucoup plus rebelle à la putréfaction. MM. Guyon et Guéneau de Mussy ont retiré de bons effets de l'administration par l'estomac de 2 à 3 grammes par jour d'acide borique, chez des vieillards dont l'urine et la vessie ne pouvaient être désinfectées par les moyens ordinaires. D'un autre côté, les expériences de Neumann sur des chiens montrent pourtant que l'injection de cet acide, en trop fortes doses, amène des vomissements, de la diarrhée, du refroidissement.

Cela doit être. S'il est un poison pour les cellules des ferments, il doit aussi être un poison pour quelques cellules de l'organisme, sinon pour la totalité. C'est là une conséquence dont ne permet pas de douter l'analogie que nous avons tant de fois signalée entre les cellules des microbes et celles qui constituent les organes des animaux supérieurs. Il ne faut jamais la perdre de vue quand il s'agit de savoir si on peut impunément laisser pénétrer dans la consommation générale tel ou tel antiseptique. Il faut toujours se demander si l'usage journalier de ces agents de conservation ne peut pas à la longue amener des effets funestes, puisque, d'après ce que nous avons dit plus haut, les probabilités sont plutôt dans ce sens que du côté de l'opinion contraire.

Des expériences de vingt-cinq et même de quarante-cinq jours sur des aliénés

à peu près inconscients apportent une conviction médiocre, on le reconnaîtra sans peine. Mais d'un autre côté, il est certain qu'il y a une sorte d'intérêt social à favoriser les moyens de mieux utiliser les ressources du sol, d'assurer la conservation de la matière organique alimentaire, et qu'il ne faut pas par suite être trop sévère sur les moyens qui permettent d'arriver à ce résultat. Comment concilier cet intérêt avec le souci de la santé publique? Il n'y a qu'un moyen légitime, c'est d'autoriser l'usage de certains antiseptiques, à la condition pour l'industrie d'en avouer l'emploi. Quelques années d'expériences, faites par ceux-là seulement qui le voudraient bien, qui seraient avertis de ce qu'ils font, et pourraient par là surveiller les résultats obtenus, nous apprendraient bien vite ce que chacun de ces antiseptiques mérite de confiance, et ceux qu'on peut conserver en rejetant les autres.

Nous avons vu, en divers points de ce livre, qu'en général l'acide borique est un antiseptique plus puissant que le borate de soude. Cependant celui-ci est encore actif. Les expériences de Jalan de la Croix concordent avec celles de Kuhn pour en faire conseiller l'emploi aux doses de 1 à 2 p. 100.

Nous avons vu, p. 179, que cette différence entre l'acide borique et le borax se retrouvait dans les effets sur la présure. J'ai trouvé l'acide borique sans action sur la sucrase. Wernitz trouve au contraire qu'il agit, à la dose de $\frac{1}{3580}$, pour rendre cette sucrase inactive. Comment expliquer cette différence? Je l'ignore.

M. Dumas a montré que la solution de borax neutralise la sucrase, l'émulsine, l'amylase, la myrosine et la pepsine. Mais là encore, de même que dans l'action sur les cellules vivantes, il n'y a, avec les doses indiquées, qu'un retard, et non une prohibition absolue.

Brôme. — On trouvera rassemblés, à propos du chlore, tous les faits relatifs à l'action, certainement comparable dans son mécanisme, si elle n'est pas toujours également puissante dans ses résultats, des trois corps de la même famille : chlore, brôme et iode. Les ressemblances et les différences de ces trois substances aparaîtront mieux que dans une étude séparée.

Chloral. — Le chloral peut agir comme antiseptique, mais à des doses assez élevées, et qui doivent aller jusqu'à 4 et 10 p. 100, lorsqu'il s'agit de conserver la viande, le lait ou l'urine. Il en faut de plus fortes proportions pour empêcher l'action de la levure de bière.

On peut se demander si ces effets ne sont pas dus à la réaction ordinairement acide de l'hydrate de chloral, et au chlore qu'il peut alors renfermer. MM. Dujardin-Baumetz et Hirne ont essayé de prouver le contraire en adaptant à un flacon qui renfermait 20 grammes de viande et 2 grammes d'hydrate de chloral dans 100 grammes d'eau, un tube à boules renfermant du nitrate d'argent en solution, et en constatant que ce liquide restait limpide. Mais d'abord, comme le flacon est resté inaltéré, on ne voit pas quel dégagement de gaz aurait pu entraîner le chlore au cas où il s'en serait formé. Puis, si le chloral doit ses propriétés antiputrides au chlore, c'est que ce chlore est utilisé et absorbé à

l'intérieur du flacon, et dès lors, quel argument peut-on tirer de ce qu'on n'en recueille pas?

M. Personne a fait voir que le chloral coagulait l'albumine, le contenu du sarcolemme et formait avec ces corps des composés imputrescibles. Il est possible que ce soit là le secret de son action sur les cellules des infiniment petits dont il coagule le contenu.

Chlore, brome, iode. — Il est peu de questions qui aient été aussi étudiées que celle des propriétés antiseptiques de ces trois corps, et surtout celles du premier, et il en est peu, par conséquent, sur lesquelles il existe une pareille somme de résultats contradictoires. Il y a à cela des causes nombreuses qu'il n'est pas inutile de passer en revue. Ce sera faire une critique générale et anonyme des travaux publiés sur ce sujet.

La première cause d'incertitude résulte des différences dans les procédés opératoires. On a tantôt fait agir le chlore, en l'ajoutant, à l'état d'eau de chlore, dans les dissolutions, tantôt on s'est contenté de déposer dans une chambre plus ou moins bien close, et contenant des êtres vivants où des liquides fermentescibles, un mélange pouvant dégager du chlore, après quoi on a abandonné l'expérience à elle-même, en calculant le poids du chlore produit d'après le poids des matériaux employés. Il importe de remarquer qu'on ne peut rien tirer de bon de ce procédé. On ne sait jamais sur quelle proportion de chlore on opère; car d'abord tout le chlore théoriquement possible ne se dégage pas, puis ce gaz, à raison de sa densité, se distribue très inégalement dans la chambre, que l'on calfeutre bien pour éviter les pertes, et où on supprime ainsi les courants d'air, c'est-à-dire le seul mécanisme pouvant assurer la distribution égale du gaz chlore en tous les points.

Cette première cause d'illusions expérimentales n'existe pas pour le brome et l'iode qui ont presque toujours été employés en nature. Supposons qu'on l'ait évitée, et qu'on ait amené une dose exactement mesurée de l'un de ces corps au contact de la substance sur laquelle il s'agit d'essayer leur action, il intervient alors un effet chimique contre lequel il faut aussi se mettre en garde.

Le premier phénomène, très rapide avec le chlore, mais encore très sensible avec l'iode, est une combinaison avec l'hydrogène emprunté, soit à l'eau, soit aux matières organiques, combinaison d'où peut résulter, ou non, un dégagement d'oxygène. On peut, à la rigueur, se dispenser de chercher à pénétrer le mécanisme de cette action, et la mettre au compte de l'effet antiseptique. Mais elle ne s'accomplit pas sans un changement de la réaction du liquide, et ce phénomène latéral peut à son tour induire en erreur.

Cette réaction fera toujours un pas vers l'acidité. Si elle était alcaline, elle pourra devenir neutre ou même acide. Si elle était neutre à l'origine, elle sera sûrement acide. Il pourra se faire alors que l'effet antiseptique soit dû uniquement à cette acidité. Il pourra se faire aussi qu'il y ait, par suite de cette réaction nouvelle, une précipitation de matière qui entraîne les cellules vivantes dans ses mailles, et fasse croire à leur destruction, alors qu'elles sont seulement immobilisées par la gangue qui les entoure. Dans les essais de neutralisation des virus par le

chlore, on s'est souvent heurté à cette cause d'erreur. Le liquide virulent devient acide, donne un fort précipité qui entraîne les éléments virulents, et dès lors l'inoculation de ce liquide peut être stérile, soit parce que les matériaux solides un peu volumineux ne s'inoculent pas par piqûre, soit parce que les granulations virulentes retenues par leur gangue ne peuvent ni proliférer sur place ni être emportées par la circulation. Je ne parle pas des cas dans lesquels on a inoculé le mélange de liquide virulent avec l'antiseptique, superposant ainsi, comme à plaisir, dans l'organisme, deux actions obscures qu'il eût été plus prudent d'isoler.

Nous ne parlerons que des expériences dans lesquelles ont été évitées les plus grosses de ces causes d'erreurs. Nous rencontrons d'abord, remplissant assez bien cette condition, les travaux de Jalan de la Croix sur le bouillon. Ce liquide est un peu acide, il ne précipite pas par les doses de chlore reconnues utiles : le chlore, le brome et l'iode y étaient ajoutés en nature; nous voyons que l'ordre des pouvoirs désinfectants est l'ordre des corps dans leur famille naturelle; on voit aussi que le chlore est très actif, plus actif même que le bichlorure de mercure, puisqu'il suffit de 33 milligrammes de ce corps par litre pour empêcher le développement des bactéries dans le bouillon.

Il pourrait se faire, remarquons-le bien, que ces proportions ne soient pas suffisantes pour stériliser un liquide renfermant une plus forte proportion de matière organique, un bouillon plus concentré, parce que l'action peut n'être pas du tout la même, si le chlore a été tout entier employé à des oxydations ou s'il en reste une petite portion en excès. Il peut enlever de l'hydrogène, produire de l'oxygène, et agir en tant que chlore. Ces actions ne sont pas toujours également pondérées, et il peut en résulter des différences dans les doses. Mais le caractère antiseptique du chlore n'en est pas moins certain. Celui du brome et de l'iode est moins accusé et cependant encore très remarquable.

L'étude des actions de ces trois substances sur les virus et certains poisons nous conduit à la même conclusion.

Avec le vaccin, Baxter a vu qu'il n'y avait pas de différence dans les résultats de l'inoculation du vaccin, mélangé de son volume d'une solution salée à 0,5 p. 100, ou d'une solution chlorée à peu près au même titre, tant que la lymphe restait alcaline et que la proportion du chlore dissous dans le liquide inoculé ne dépassait pas 1,4 p. 1000. Quand elle s'élève à 1,63 p. 1000, trois piqûres ne donnent aucune vésicule, tandis que sur l'autre bras le vaccin dilué dans l'eau salée donne trois vésicules sur trois piqûres.

L'emploi de l'eau salée répond sans doute à la préoccupation louable d'introduire dans le vaccin normal une substance de la même nature que celle qui résulte de l'action du chlore sur la lymphe organique de l'autre portion de vaccin, mais elle ne suffit pourtant pas à rendre les deux séries d'inoculations comparables. et, en fait, pour Baxter comme pour Dougall, qui l'avait précédé dans cette voie, c'est au moment où la lymphe vaccinale devient manifestement acide et fournit un précipité que son inoculation reste sans effet.

Ces essais ont porté sur du vaccin frais. Baxter a aussi fait des expériences sur du vaccin desséché qui ont montré l'action destructive du chlore sur le virus, mais sans permettre de mesurer les doses actives. Sternberg est arrivé à

des résultats plus nets. Il a vu qu'en exposant pendant six heures, dans une atmospbère contenant au moins $\frac{1}{100}$ de gaz chlore, une plaque d'ivoire portant du vaccin desséché, ce vaccin cessait d'être inoculable.

Cette forme donnée à l'expérience est évidemment plus probante que toute autre. Lorsque pourtant on veut essayer l'action sur des liquides frais, il faut se rapprocher des dispositions expérimentales appliquées par M. Davaine à l'étude de l'action de l'iode sur le virus charbonneux. Ce savant mélange un centimètre cube de sang charbonneux à un litre d'eau pure. Quelques gouttes de cette solution très étendue suffisent pourtant, inoculées à un cobaye, pour amener rapidement et sûrement la mort de l'animal. On mélange alors à ce liquide une solution dosée d'iode, on laisse une heure de contact, et on inocule à nouveau. Davaine a trouvé que la neutralisation pouvait être obtenue par sept milligrammes d'iode par litre de virus charbonneux dilué; cette proportion est trop faible pour produire un changement sensible de réaction, une précipitation quelconque, ou pour modifier les phénomènes d'absorption au point d'inoculation. L'expérience est donc faite dans des conditions suffisamment probantes.

Mais ici encore nous devons faire remarquer que la dose active d'antiseptique est en rapport avec la quantité de virus et de matière organique présente. Dans d'autres expériences antérieures, avec un virus autrement dilué, renfermant peut-être des germes, Davaine avait vu qu'il fallait pour la neutralisation non plus 7 milligrammes, mais 83 milligrammes d'iode par litre. C'est là une notion dont on n'a pas tenu compte quand on a conclu des expériences de Davaine à l'utilité des injections sous-cutanées d'eau iodée dans la pustule maligne. Il est clair que si on veut avoir un effet, il faut proportionner la dose d'antiseptique à la fois à la quantité de virus et de matière organique présente, et quelques gouttes d'une solution à $\frac{1}{100}$ d'iode peuvent être, dans les cas de pustule maligne, une médication tout à fait insuffisante.

Avec le virus septicémique très dilué, Davaine a trouvé que $\frac{1}{10000}$ d'iode suffisait à la neutralisation complète. Mais on n'obtient aucun résultat, comme l'a fait voir M. Colin, en faisant ingérer des solutions iodées à un animal antérieurement inoculé. Les deux expériences ne sont pas contradictoires, elles sont bonnes toutes les deux ; l'erreur est de les opposer l'une à l'autre.

Je ne parle pas d'autres expériences dans lesquelles on a essayé l'action du chlore, du brome et de l'iode sur différents virus, mais dont les résultats sont moins concluants, soit à cause de l'incertitude des doses, soit par l'oubli d'autres conditions de précision ou de méthode. Celles qui précèdent suffisent pour donner une idée de l'action des corps de cette famille naturelle, et des conditions dans lesquelles il faut se mettre quand on veut la bien connaître ou la bien utiliser.

Je ne parle pas non plus de l'action des hypochlorites ou chlorures décolorants, qui ne sont, à proprement parler, que des sources de chlore. Il importe de ne pas oublier, dans les expériences où on fait intervenir ces corps, d'abord

qu'ils ne dégagent leur chlore qu'en présence d'un acide qui peut du reste être l'acide carbonique, puis que le chlorure de chaux, souvent employé, laisse comme résidu de son action du chlorure de calcium, corps qui par lui-même a une action très puissante sur certaines diastases, comme nous l'avons vu quand nous avons fait l'étude de ces corps. Remarquons en passant que le chlore, le brome et l'iode, sont aussi des paralysants très actifs des diastases. Le chlore, nous le savons, agit à des doses très faibles, le brôme, à des doses comprises entre $\frac{1}{3000}$ et $\frac{1}{30000}$, l'iode à des doses de $\frac{1}{1000}$ à $\frac{1}{25000}$. Jusqu'ici les antiseptiques les plus puissants ont été aussi des paralysants très énergiques des diastases. Cela tient sans doute à ce que ces corps coagulent le *protoplasma* des cellules vivantes, et peuvent dès lors coaguler aussi les diastases en solution, comme cela est du reste manifeste pour quelques-uns d'entre eux.

Acide chlorhydrique. — Les fumigations d'acide chlorhydrique ont été la première invention et la source de la réputation et de la fortune de Guyton de Morveau. Ce n'est qu'après les avoir longtemps préconisées qu'il a adopté les fumigations de chlore, et il paraît même ne pas avoir beaucoup tenu à distinguer les deux procédés dans ses écrits. C'est Dizé, en France, et Cruickshank, en Angleterre, qui ont eu les premiers l'idée d'ajouter, au mélange de sel et d'acide sulfurique qui fournissait les fumigations *guytoniennes*, du bioxyde de manganèse, destiné à fournir de *l'acide muriatique oxygéné*. Ces fumigations au chlore sont seules restées dans la pratique. Nul doute pourtant que la fumigation guytonienne n'ait rendu des services. L'acide chlorhydrique est très actif. Il se précipite et se dissout rapidement quand il rencontre de la vapeur d'eau ou des corps humides. Il peut facilement imprégner les cellules vivantes en suspension dans l'air, et les tuer en produisant la coagulation ou en changeant la réaction de leur protoplasma. Les expériences de Jalan de la Croix montrent qu'avec une très faible dose d'acide sulfurique, on arrête l'envahissement d'un bouillon ensemencé de bactéries. Or, cet acide n'agit certainement que par son acidité, et il est impossible de lui attribuer, aux doses auxquelles il intervient, aucun rôle chimique. L'acide chlorhydrique doit agir de même, il a de plus l'avantage d'être volatil, et d'aller chercher dans l'air les éléments auxquels on veut qu'il s'attaque. C'est là la cause du succès qu'il a eu, et l'origine des services qu'il a rendus.

Chloroforme. — Les antiseptiques que nous avons rencontrés jusqu'ici sont surtout des poisons de la cellule vivante et des paralysants des diastases quelle sécrète. Le chloroforme paraît respecter assez bien l'action des diastases, mais agit assez vivement sur les cellules vivantes, comme l'ont montré les essais de M. Muntz. Toutefois, l'expérience montre qu'on ne saurait en faire, comme l'avait pensé ce savant, un moyen de distinguer les phénomènes dus aux diastases de ceux qui s'accomplissent sous l'action d'êtres vivants. Le chloroforme ralentit l'activité des cellules et les anesthésie pour ainsi dire, rend leur vie plus pénible et plus lente, mais il ne les tue pas, ou ne les tue que

pour des doses très supérieures aux doses antiseptiques ordinaires. Jalan de la Croix n'a pas réussi à stériliser son bouillon en le mélangeant avec les $\frac{5}{4}$ de son poids de chloroforme. Il est vrai que le chloroforme cessant de le dissoudre longtemps avant d'avoir atteint cette limite, l'expérience n'a pas grande signification au point de vue des nombres, mais elle prouve que le chloroforme n'a qu'une très médiocre efficacité comme agent destructeur de la vie des cellules.

Essences. — Nous plaçons ici l'étude de quelques essences remarquables par leurs propriétés antiseptiques. Jalan de la Croix en a étudié trois, que nous rangeons dans l'ordre de puissance : l'essence de moutarde, le thymol et l'essence d'eucalyptus. La première, la plus active, n'est pas entrée dans la pratique, sans doute à cause de son odeur vive et désagréable.

Essence de thym. — L'essence de thym a eu plus de succès. Son principe actif paraît être un phénol qu'elle renferme, l'acide thymique ou thymol, dont elle contient à peu près la moitié de son poids. C'est le docteur Paquet qui, le premier, en 1868, a préconisé l'emploi de ce thymol comme antiseptique dans le traitement de certaines maladies. On l'a depuis fréquemment employé à des usages très divers. Le tableau de Jalan de la Croix le met à un niveau supérieur à celui de l'acide phénique. Dans d'autres expériences, faites, il est vrai, avec d'autres liquides que le bouillon, il s'est montré encore plus actif. Ainsi Haberkorn a vu qu'il empêchait, à la dose de $\frac{1}{3000}$, le développement des bactéries dans l'urine ; Kuhn a trouvé la même dose pour l'infusion de pois. D'après Stern, la lymphe vaccinale thymolisée donne des vaccinations plus incertaines que la lymphe normale, mais l'efficacité du thymol, sous ce point de vue, n'est pas comparable à celle des corps halogènes que nous venons d'étudier.

Essence d'eucalyptus. — Demarquay a employé, en 1872, l'essence d'eucalyptus en solution étendue pour la désinfection des plaies. Lister l'a récemment proposée pour remplacer l'acide phénique, qui produit quelquefois des empoisonnements. La valeur de cette substance antiseptique paraît réelle. Peut-être est-elle due, comme le pense le docteur Poehl, à ce que, comme l'essence de térébenthine et en général toutes les essences contenant un terpène, elle donne, sous l'action de la lumière, et en présence de l'oxygène, naissance à de l'ozone. On s'expliquerait ainsi comment elle peut produire un effet quand elle est employée en surface à la désinfection d'une plaie ; on s'expliquerait aussi comment elle s'est montrée si peu active dans les expériences de Jalan de la Croix, pour préserver le bouillon de l'envahissement des bactéries ou pour stériliser un liquide envahi. Il faut remarquer, dans ces expériences, comme une bizarrerie singulière, que les doses nécessaires pour arrêter le développement des bactéries dans du bouillon qui en est peuplé, sont plus faibles que celles qui empêchent ce bouillon de se peupler après en-

semeneeement. En somme, l'emploi de cet antiseptique est accompagné de beaucoup d'incertitude.

Essence de Wintergreen. — Les mêmes remarques s'appliquent à l'essence de Wintergren. D'après les expérienees de MM. Gosselin et Bergeron, il semble qu'elle agisse surtout lorsqu'elle a le contaet de l'air. Ainsi elle s'est montrée assez efficace lorsqu'on la laissait s'évaporer sous une cloche dans laquelle on avait laissé un flacon de sang, tandis qu'introduite à l'état de solution aleoolique à 5 pour 100, dans son volume de sang, elle en avait à peine retardé l'envahissement. Mais eette interprétation est une simple induction provoquée par la leeture du réeit de ees expériences. Elle n'est pas visée par les auteurs et mérite une étude spéciale.

L'utile emploi que MM. Gosselin et Bergeron d'abord, puis MM. Lueas-Championnière et Périer ont fait de eette essenee pour les pansements antiseptiques, non seulement n'est pas contradietoire à cette hypothèse, mais semble au contraire l'appuyer.

Manganate (hyper) de potasse. C'est Condy qui a le premier (1859) appelé l'attention sur les propriétés désinfeetantes de ce sel, et la liqueur de Condy est encore très employée en Angleterre. En France on se sert de préférence d'une simple solution d'hypermanganate de potasse.

Les propriétés antiseptiques de cette substance se rattachent intimement à ses propriétés oxydantes énergiques. Elle oxyde et détruit les microbes et leurs germes, mais il ne faut jamais, dans son emploi, oublier une chose: c'est qu'elle agit sur un très grand nombre de matières organiques, sur lesquelles elle dépense son oxygène avee autant et même plus de rapidité que sur les germes, et que par suite ses propriétés antiseptiques sont fugitives, à moins qu'on ne l'emploie en quantités suffisantes pour détruire toute la matière organique présente, ce qui est souvent impratieable. Il est elair, par exemple, qu'on ne saurait jamais employer ee eorps à la désinfeetion des selles de typhoïques.

Mais on peut lui demander et on lui demande de désinfecter des plaies superficielles de mauvais aspeet, ou encore de nettoyer des abcès profonds qu'on a au préalable lavés à l'eau et débarrassés ainsi de tout ee qui absorberait en pure perte l'oxygène du permanganate. En revanehe et pour les mêmes raisons, l'efficaeité de son emploi pour l'usage interne est très problématique, bien qu'il ait été souvent proposé et essayé. Il ne faut demander à chaque substanee que ce qu'elle peut donner, et c'est pour cela que nous essayons de nous rendre un compte exact de l'aetion de celles que nous étudions.

La même remarque permettrait d'expliquer une foule de singularités et de contradietions rencontrées dans l'étude des propriétés antiseptiques du permanganate. Mais au point où nous en sommes, cette diseussion est iuutile.

Mercure (Sels de). Les divers sels de mercure, mais surtout le sublimé, sont des antiseptiques très puissants. Quelques gouttes de leurs solutions suffisent à empêeher ou à suspendre le développement des bactéries dans une infusion organique. Nous avons vu que le sublimé eorrosif n'était guère dépassé que par le ehlore, dans les expériences de Jalan de la Croix.

Toutefois, il faut toujours prendre garde, quand on se sert de ces sels, aux réactions qu'ils subissent de la part du liquide où on les introduit, et qui peuvent en paralyser l'action. Il ne faut les introduire ni dans un liquide alcalin qui les précipite, ni dans un liquide renfermant de l'albumine ou des matières analogues, avec lesquelles se forme un albuminate de mercure insoluble. Cet albuminate est encore antiseptique, sans doute parce qu'il subit un phénomène de dissociation qui remet le sel de mercure en liberté, mais ses propriétés, sous ce point de vue, sont de beaucoup inférieures à celles du sel de mercure qui lui a donné naissance.

Davaine a évité ces deux causes d'erreur dans ses études sur la destruction par le sublimé des propriétés virulentes de la bactéridie. Il opérait, comme nous le savons, sur des dilutions très étendues de sang charbonneux, et dans ces dilutions, où ne se produisait aucune action étrangère à celle qu'il voulait étudier, il a constaté que $\frac{1}{160000}$ de bichlorure de mercure ne détruisait pas la virulence, mais que à $\frac{1}{150000}$ le virus cessait d'être inoculable.

Rappelons-nous, par ce que nous avons vu à propos de l'action de la chaleur, que cette expérience prouve une seule chose : que la bactéridie ainsi traitée ne tue pas l'animal auquel on l'inocule. Elle ne prouve pas qu'il n'y ait pas développement du microbe dans l'organisme, elle ne prouve pas surtout qu'il y ait mort de la bactéridie pour une aussi faible dose de sublimé.

Koch a trouvé qu'il fallait $\frac{1}{1000}$ de chlorure, de sulfate ou d'azotate de mercure, pour tuer les spores d'un microbe qu'il a rencontré dans un furoncle, et qu'il considère, sans autres preuves d'ailleurs, comme le microbe du furoncle. Pour abréger, nous pourrons lui donner ce nom, en faisant nos réserves sur la relation qui s'y trouve exprimée.

La dose est très différente de celle de Davaine : c'est que M. Koch opère autrement. Il introduit dans la solution de sel mercuriel un fil chargé de spores, qu'il ensemence ensuite dans un liquide convenable. Ici, pour ne pas se développer, la spore doit être morte.

Il faut rapprocher ces expériences de Koch de celles de Jalan de la Croix dont les résultats sont inscrits dans la troisième colonne du tableau de la p. 829. On y trouve les doses de sel à introduire dans 1 litre de bouillon rempli de bactéries, pour qu'une goutte de ce bouillon n'apporte pas de germes vivants dans un nouveau bouillon où on l'ensemence. Jalan de la Croix a trouvé qu'il fallait pour cela $\frac{1}{12500}$ environ de sublimé. C'est un chiffre intermédiaire entre ceux de Davaine et de Koch.

Le chiffre de Davaine est inférieur aussi à la dose d'antiseptique reconnue nécessaire par Jalan de la Croix pour empêcher la première évolution des microbes dans un liquide additionné de bichlorure et de semences de bactéries. C'est que les forces de l'organisme ajoutent leur action à celle de l'antiseptique, comme nous l'avons fait remarquer à plusieurs reprises.

Enfin, dans le même ordre d'idées, nous nous expliquerons une contradiction où M. Koch a tort de trouver un argument contre les antiseptiques.

Ce savant injecte à un cobaye 1 gramme d'une solution de sublimé au millième, et lui inocule le même jour des bactéridies charbonneuses. Le lendemain, la plaie d'inoculation étant légèrement rougie et gonflée, il injecte 2 grammes de la même solution de sublimé.

La quantité totale de sublimé reçue par le cobaye aurait été, d'après les expériences *in vitro*, plus que suffisante pour rendre impossible le développement des bactéries dans une solution nutritive de poids égal à celui du cobaye, et cependant le cobaye mourut du charbon dans la nuit.

Il n'y là rien de contradictoire. Rien ne dit que le bichlorure de mercure ait pénétré dans tout l'organisme ; rien ne dit, et tout fait penser au contraire, qu'il s'est rapidement précipité à l'état insoluble au point d'injection et autour de ce point. Aurait-il été charrié partout que rien n'autorise à comparer un animal à son poids de bouillon. Il est contraire à toutes les lois de la physiologie de conclure de l'un à l'autre.

Concluons que les sels de mercure sont des antiseptiques très actifs. On ne peut malheureusement, à raison des propriétés toxiques qui sont une conséquence de leur puissante action sur les cellules vivantes, les utiliser pour la conservation des matières alimentaires, mais on peut leur demander d'être, dans quelques cas, des médicaments énergiques, comme dans la liqueur de Van Swieten, ou des agents puissants de conservation des bois, des pièces anatomiques, des cadavres, etc.

Oxygène. — Il est inutile de revenir ici sur les propriétés de l'oxygène comme agent antiseptique. Elles ont été fréquemment étudiées dans le courant de ce livre. Mais nous avons à indiquer les moyens proposés pour augmenter ou pour exalter l'action de cet agent.

Je ne parlerai pourtant pas des prétendus bons effets que l'on a cru de très bonne foi avoir observés quelquefois, en faisant dégager à l'extrémité d'une salle une quantité d'oxygène correspondant à peu près au millième du cube d'air total, ou en y introduisant des mélanges pouvant y dégager lentement, si la réaction eût été complète, un volume de ce gaz atteignant environ $\frac{1}{2000}$ du volume de la salle. Cela revient au maximum à augmenter de $\frac{1}{200}$ la proportion d'oxygène, et il est trop clair qu'on ne peut accepter sans preuves solides l'intervention d'une aussi minime variation dans la proportion de ce gaz.

Ce qui est plus pratique, c'est d'essayer l'action, comme antiseptique ou agent de désinfection des plaies, d'un liquide pouvant dégager de l'oxygène comme l'eau oxygénée. C'est ce qu'ont fait MM. Paul Bert et Régnard. $\frac{1}{100}$ d'eau oxygénée préserve longtemps certains liquides organiques de la putréfaction. Il semble pourtant, au moins dans quelques expèriences, que l'eau employée ait été acide, et, dès lors, il y a à se demander si quelques-uns des effets qu'on lui attribue ne sont pas dus uniquement au changement qu'elle apporte dans la réaction du liquide.

M. Damaschino a employé l'eau oxygénée au traitement du muguet, en faisant laver trois ou quatre fois par jour avec cette eau des muqueuses recouvertes de leurs algues parasites. MM. P. Bert et Péan ont employé avec succès le même liquide privé d'acide, et fournissant deux fois son volume d'oxygène, à des lavages et pansements antiseptiques.

Ozone. — Les expériences de Boillot, d'Angus Smith, de Chappuis témoignent que l'ozone peut être dans certains cas un agent très actif de désinfection. M. Chappuis soumet à un courant d'ozone des bourres de coton chargées de poussières puisées dans l'air, et trouve qu'on peut les ensemencer ensuite dans un liquide nutritif sans qu'elles le fécondent. Les doses d'ozone nécessaires pour amener la désinfection n'ont été, à ma connaissance, mesurées dans aucune expérience, mais elles peuvent sans doute être très faibles; et si on s'arrange pour rendre cette désinfection continue, si par conséquent on met de son côté l'action du temps, on est fondé à en espérer de bons résultats.

C'est en effet un problème relativement facile à résoudre que de charger l'air de doses appréciables d'ozone. Il existe des ozoniseurs divers dont quelques-uns très efficaces, mais le moyen le plus pratique repose sur l'emploi des essences. Schönbein a remarqué le premier que certaines huiles essentielles en voie d'oxydation dégagent de l'ozone. Angus Smith a classé les huiles volatiles les plus répandues d'après les quantités d'ozone qu'elles dégagent, en prenant pour guide les teintes du papier des appareils ozonométriques. Il a placé au premier rang l'essence de peau d'oranges, puis l'essence de térébenthine, puis celle de genévrier, de cumin et de lavande. L'essence de térébenthine est celle que son bas prix rend la plus abordable, et un courant d'air circulant sur des toiles à larges mailles imbibées de cette essence mériterait d'être étudié comme agent de désinfection.

Il ne faudra pas oublier pourtant, quand on fera des tentatives dans cette direction, que l'ozone irrite assez fortement la muqueuse respiratoire, et peut même quelquefois agir comme un poison. Il agit, d'après M. A. Thénard, sur les globules du sang et les mouvements du cœur.

Acide phénique. — L'acide phénique a été un des premiers antiseptiques étudiés. Ce sont surtout les travaux du D[r] Déclat qui ont appelé l'attention sur lui, et son emploi dans le pansement antiseptique de Lister lui a donné une vogue très grande. Le nombre des mémoires publiés, pour exalter ou déprécier sa valeur, est tellement grand aujourd'hui, que leur analyse nous entraînerait trop loin. Nous nous bornerons à indiquer dans quel sens on est conduit à conclure quand on en a fait l'étude et la critique.

La première conclusion est que l'acide phénique concentré, même l'acide phénique dissous dans son volume d'alcool, sont des agents désinfectants de premier ordre, auxquels ne résiste aucune cellule vivante. Ils en coagulent le protoplasma, et d'une façon définitive, de sorte que le transport de ces cellules dans un milieu stérile, où l'acide qu'elles contiennent peut se diluer, n'y porte pas la vie. Comme cet acide est inoffensif, lorsqu'il est dissous dans son volume d'alcool, pour la peau, les linges et les métaux, il convient admirablement pour la

désinfection des bandages et instruments du chirurgien. L'emploi de la chaleur vaut pourtant mieux, mais il n'est pas toujours possible.

A mesure qu'on augmente la dilution de cet acide et qu'on se rapproche ainsi des mélanges usuels, ses propriétés actives disparaissent peu à peu. L'acide continue toujours à immobiliser les germes et les adultes, mais commence à ne plus pouvoir les tuer. Il cesse alors de ressembler au bichlorure de mercure par exemple, qui tue tout ce sur quoi il a agi, pour ressembler au chloroforme qui ne produit qu'une sorte d'anesthésie passagère.

A des doses de 1 à 5 p. 100, l'acide phénique peut arrêter la multiplication des bactéries dans un liquide déjà fortement envahi, mais cet effet n'est ni sûr, ni durable. Le travail vital continue sourdement; pendant ce temps l'acide phénique disparaît par évaporation, quelquefois il est détruit peu à peu et son odeur disparaît. M. Muntz a même rencontré des espèces qui en vivent en guise de substance hydrocarbonée. Bref, pour l'une de ces raisons, ou pour toutes ces raisons réunies, les bactéries reprennent peu à peu le dessus. C'est là le phénomène où divers auteurs ont voulu voir une accoutumance graduelle des cellules vivantes au milieu où on les force de vivre. En réalité, il n'y a pas d'accoutumance au sens propre du mot, c'est-à-dire qu'on ne connaît aucune espèce vivante, qui tirée de ce milieu auquel on admet qu'elle s'est habituée, puisse être transportée impunément et se développer librement dans un second milieu identique. Mais il n'est pas douteux que les cellules qui ne meurent pas n'arrivent à se plier aux conditions difficiles de vie qu'on leur fait, et à en triompher, puisqu'elles n'ont devant elles qu'une résistance inerte dont l'effort maximum a eu lieu à l'origine. Parfois il est arrivé aussi des changements d'espèces à la suite de l'introduction de l'acide phénique dans le milieu. Celles qui s'accommodent le mieux de ce corps ont pris le dessus, et comme on n'y a pas regardé de très près, on s'est trouvé conduit par une autre voie à cette même idée d'accoutumance.

Si on réduit encore les proportions d'acide phénique, on arrive à des doses qui ne peuvent plus arrêter l'évolution des microbes dans un liquide envahi, mais qui peuvent s'opposer à un premier développement, et empêcher la décomposition de la matière organique à laquelle elles sont mélangées. Toutes ces retraites successives se font par transitions insensibles, et dépendent dans une large mesure de la température, de la nature des liquides, de celle des microbes, etc. Ainsi M. Cheyne, qui a été interne de M. Lister, a constaté que dans le traitement de ce chirurgien, quand on étudie au microscope la sérosité des plaies, les bactéries n'apparaissent que très rarement sous les pansements bien faits, mais que les micrococcus y sont très communs, ce qui revient à dire que les micrococcus présents dans l'air, et que n'atteignent pas les pulvérisations d'acide phénique dont Lister entoure l'opérateur et l'opéré, craignent moins le contact de l'acide phénique que les bacillus et les vibrions.

Enfin, quand, au lieu de mélanger l'acide phénique à la solution organique, on se contente de le répandre, en vapeur, dans de l'air au contact duquel on met la solution, son efficacité est à peu près nulle. Il n'est pas très volatil, il est très peu soluble dans l'eau; il est douteux qu'aucune des solutions ainsi traitées en dissolve des quantités sensibles. Comme on voit, c'est l'inverse de ce que nous

avons observé pour les essences, et il n'en faut pas plus pour prouver que chaque antiseptique a ses allures qu'il faut apprendre à connaître et auxquelles il faut savoir se plier quand on lui demande un service.

Il ne faudrait pourtant pas conclure de cela à l'inutilité des pulvérisations phéniquées dans le pansement de Lister. Là, le liquide phéniqué tombe directement sur la surface à préserver, et imbibe les mains de l'opérateur, les linges, la charpie, les bandages, la surface des instruments. Il ne s'agit pas pour lui de pénétrer dans les profondeurs d'un liquide putrescible, qu'on expose à son action en couches plus ou moins épaisses : on lui demande de recouvrir légèrement des surfaces exposées à l'air, et de pénétrer le plus avant possible dans leurs anfractuosités. Le but poursuivi est tout différent, et les deux expériences ne sont pas comparables.

De même, les conditions sont tout autres, quand on demande à l'acide phénique de détruire un parasite déjà installé dans un organisme vivant. Il faut évidemment ici le faire intervenir à doses plus massives, et on se heurte alors aux phénomènes d'empoisonnement que nous avons déjà signalés. Cet empoisonnement se manifeste par des maux de tête et de ventre, du refroidissement, de la lipothymie, et une coloration d'abord verte, puis noire des urines, coïncidant probablement avec une destruction active des globules du sang. Doit-on conclure de cette quasi impossibilité d'atteindre par l'acide phénique les parasites de l'organisme, sans atteindre les cellules de l'organisme lui-même, qu'il faut renoncer à l'emploi de ce corps. Ce serait encore faire un raisonnement incorrect. L'acide phénique introduit en injections sous-cutanées ou par les voies digestives peut gêner le développement des microbes, et venir en aide aux efforts que l'organisme fait pour les expulser. Tout est affaire de mesure et d'observation précise. Quelques faits bien établis, dans cet ordre d'idées, vaudraient beaucoup mieux que des masses d'observations dans des tubes ou des flacons, surtout quand on en interprète aussi arbitrairement les conclusions que dans les cas que nous avons signalés tout à l'heure.

Acide picrique. — M. Ranvier utilise depuis longtemps cet acide pour durcir les tissus dans certaines préparations histologiques. On s'en sert aussi, dans le procédé d'Esbach, pour précipiter l'albumine des urines. On a le droit de conclure de ces deux faits que cet acide peut coaguler le protoplasma de certaines cellules, et par là être un antiseptique. Il a été étudié sous ce point de vue par MM. Chéron, Schwartz, Kuhn et Jalan de la Croix. Schwartz et Kuhn ont employé comme infusion organique, à laquelle on mélangeait l'antiseptique dont on voulait essayer l'action, un liquide artificiel, dit de Bucholtz, et formé de 1 gramme de tartrate d'ammoniaque et de $0^{gr},50$ de phosphate de potasse pour 100 centimètres cubes d'eau. Ces liquides artificiels ont été beaucoup employés en Allemagne, et on ne voit vraiment pas pourquoi, car ils sont beaucoup moins propres que les infusions organiques ordinaires au développement des microbes, et les conclusions auxquelles amène leur emploi ne sont d'ordinaire nullement applicables aux liquides naturels. Celles de Jalan de la Croix sont plus acceptables, et montrent que $\frac{1}{2000}$ d'acide picrique empêche le développement des bactéries

dans un bouillon ensemencé. Avec le liquide de Bucholtz, Schwartz avait trouvé $\frac{1}{15000}$, parce que ce liquide est moins nutritif que le bouillon, et n'exige par conséquent qu'une dose d'antiseptique plus faible.

Résorcine. — Les travaux d'Andeer, de Callias, de Dujardin-Baumetz ont attiré l'attention sur cette substance, dont 2 p. 100 ont suffi à conserver le lait, et ce qui est moins croyable, 1 p. 100 à arrêter un liquide en fermentation alcoolique. Il est probable que cette fermentation était bien peu active. Comme l'acide picrique, la résorcine coagule l'albumine ; sa solution dans l'eau est neutre et n'irrite pas les tissus; elle est toxique à hautes doses, mais moins que l'acide phénique. La dose mortelle est d'environ 1 gramme par kilogramme du poids de l'animal. On peut donc l'employer avec quelque sécurité pour les usages externes et avec prudence pour les médications internes.

Acide salicylique. — Les considérations que nous avons développées à propos de l'acide phénique sont applicables dans leur entier à l'acide salicylique. Il n'y a qu'une seule différence à signaler, c'est que Jalan de la Croix n'est pas arrivé à atteindre pour l'acide salicylique la dose massive nécessaire à la stérilisation complète d'un liquide chargé de bactéries, sans doute parce que l'acide salicylique est trop peu soluble. Mais, pour tout le reste, nous ne pourrions que nous répéter.

La conclusion commune, c'est que l'acide salicylique, de même que l'acide phénique, et plus encore que lui, à raison de son peu de solubilité qui rend difficile l'emploi de solutions concentrées, est surtout un agent préventif de l'invasion des microbes. Sa puissance sous ce rapport, sa saveur faible, son odeur à peine perceptible lui ont donné la vogue comme agent de conservation des substances alimentaires, et depuis que les travaux de Kolbe l'ont fait connaître et ont fourni les moyens de le fabriquer à bas prix, l'industrie s'en est servi sur une large échelle pour préserver les vins, bières, laits, viandes, conserves, de la fermentation ou de la putréfaction. Il en a été consommé en France, pour cet usage, en 1880, au moins 50.000 kilogrammes, et on n'a pas de peine à le comprendre, quand on voit à quelles doses il est employé. Dans un mémoire à consulter, publié en 1881 par les industriels intéressés à la tolérance de l'administration au sujet de cet acide, on trouve avoués les chiffres suivants pour les doses moyennes employées :

Vins secs.	8 à 12 centigrammes par litre.
Vins doux.	10 à 15 — —
Vins nouveaux doux . .	15 centigrammes par litre, en deux fois.
Moûts doux.	15 à 20 centigrammes par litre.
Bière.	4 à 6 — —
Beurre salé.	50 centigrammes par kilogramme.
Conserves, confitures. .	50 — —
Jus de fruits à froid. .	1 gramme par kilogramme.
Eau potable	1 gramme par hectolitre.
Viande	Friction avec sel marin contenant $\frac{1}{20}$ d'acide salicylique, ou immersion dans une solution à $\frac{2}{1000}$ d'acide salicylique.
Poissons	Lavage et enveloppement dans un linge mouillé avec une solution à $\frac{3}{1000}$.

et ce sont là, bien certainement, des chiffres minimum qui risquent de s'augmenter en route, si les produits ainsi traités, en général de très mauvaise conservation, menacent de s'altérer avant d'arriver entre les mains du consommateur.

C'est ici le cas de se souvenir de ce que nous disions tout à l'heure. Si l'acide salicylique agit sur les cellules des ferments, il y a grandes chances pour qu'il agisse aussi sur les cellules de l'organisme quand il arrivera à leur contact. En fait, lorsqu'il est absorbé à des doses supérieures à 2 ou 3 grammes par vingt-quatre heures, l'acide salicylique produit quelquefois des bourdonnements d'oreille et une sorte d'ivresse comparable à celle que produit le sulfate de quinine. D'après M. Brouardel, dans les maladies où la sécrétion de l'urine est entravée, chez les goutteux, les graveleux, les albuminuriques, l'élimination naturelle de l'acide salicylique par les urines se fait mal, et des doses de 2 grammes continuées pendant un petit nombre de jours ont pu déterminer de véritables phénomènes d'empoisonnement.

La question d'autorisation du salicylage, celle de la tolérance à établir sont donc fort graves. Nous répèterons ici avec Vogel, avec Nessler, avec M. Pasteur, ce que nous avons dit à propos de l'acide borique, c'est qu'aucune substance salicylée ne devrait être vendue sans porter mention du fait et de la quantité d'acide salicylique employé.

En revanche, l'acide salicylique peut être recommandé pour les traitements désinfectants internes, les pansements, les injections vaginales pendant l'état puerpéral, le lavage des clapiers purulents. Pour quelques-uns de ces usages, la faible solubilité de l'acide salicylique est souvent gênante. On peut le dissoudre en plus fortes proportions en ajoutant un peu de soude, de façon à faire du salicylate de soude; mais nous avons vu que ce sel était beaucoup moins actif. Bose et Schwartz ont montré que le borax augmentait la solubilité de l'acide salicylique, et l'antiseptique signalé dans le tableau des essais de Jalan de la Croix, sous le nom de borosalicylate de soude, résulte précisément de ce mélange. On voit qu'il est à un niveau supérieur à celui de l'acide salicylique. Cette supériorité n'est pas le cas général, et dans quelques cas l'acide salicylique seul s'est montré plus actif; mais les qualités antiseptiques sont très développées dans l'un et dans l'autre.

Acide sulfurique. — Nous avons déjà fait remarquer que les propriétés antiseptiques trouvées par Jalan de la Croix à l'acide sulfurique étaient dues à sa nature acide.

Elles existent en effet, à des degrés sinon égaux, du moins comparables, chez d'autres acides.

Davaine a essayé l'action de divers acides, à doses minimes, sur du virus charbonneux et septique très dilué, mais dont une goutte suffisait pourtant à amener la mort d'un cobaye auquel on l'inoculait. Les liquides cessaient d'être inoculables quand ils renfermaient les doses suivantes d'acide :

	Virus charbonneux.	Virus septique.
Acide chlorhydrique.	$\frac{1}{3000}$	—
Acide sulfurique	$\frac{1}{5000}$	$\frac{1}{1500}$
Acide chromique	$\frac{1}{5000}$	$\frac{1}{3000}$.

On voit que ces proportions sont comparables à celles que Jalan de la Croix a trouvées suffisantes. Il ne faudrait pourtant pas généraliser outre mesure ces résultats. On ne les retrouverait plus en opérant avec des espèces habituées à vivre dans des milieux un peu acides. Les levures, par exemple, non seulement s'accommodent bien de l'existence d'un peu d'acide dans leur liquide nutritif, mais préfèrent sa présence. Les mucédinées sont dans le même cas. Il faut toujours avoir cet ordre de faits présent à l'esprit quand on étudie les propriétés antiseptiques des divers acides. Nous allons y trouver tout à l'heure l'explication de bien des singularités rencontrées dans l'étude de l'acide sulfureux.

Quoi qu'il en soit, les acides sulfurique et chlorhydrique peuvent, à raison de leur puissance et de leur bas prix, devenir des agents de désinfection des linges et des déjections des malades. Les linges peuvent, au lieu d'être étuvés à 100 et 115°, ce qui est quelquefois difficile dans les ménages, être bouillis à 100° dans un liquide un peu acide ce qui assure une plus complète destruction des germes que la simple action de l'eau bouillante. Quant aux selles de typhiques ou de cholériques, une bonne précaution est de les rendre un peu acides avant de s'en débarrasser.

Acide sulfureux. — Nous retrouverions dans l'examen des travaux consacrés à étudier les propriétés antiseptiques de l'acide sulfureux, les causes d'incertitude et les erreurs d'interprétation que nous avons déjà signalées à propos du chlore, Il y a même cette difficulté en plus, que le chlore a été quelquefois ajouté directement, et à l'état de solution dans l'eau, aux liquides organiques sur lesquels on voulait essayer son action, tandis qu'on n'a presque toujours fait agir l'acide sulfureux qu'en vapeurs provenant de la combustion du soufre, sans trop se préoccuper de la façon dont ces vapeurs se distribuaient dans le local où on les dégageait, de la façon dont elles se dissolvaient dans le liquide qu'on exposait à leur action, ou des changements de réaction qu'elles pouvaient ou non y amener.

De plus, rien n'autorise à croire que l'acide sulfureux ne soit pas antiseptique par lui-même et en tant qu'acide sulfureux. Mais, en outre de cette première action qu'il doit à sa nature acide, il peut en exercer une autre comme agent d'absorption d'oxygène, comme, par exemple, lorsqu'il agit sur le vin mûté pour empêcher le premier développement des globules de levure, développement qui, comme nous le savons, ne peut se faire sans oxygène libre. Par suite de son avidité pour l'oxygène, il paralyse le développement des êtres qui en ont besoin et dont les espèces les plus connues, les levures et les mucédinées, aiment précisément les milieux acides. Or, d'un autre côté, en se transformant en acide sulfurique dans le milieu où on l'a introduit, l'acide sulfureux gêne le développement des bactéries, des vibrions, et, en général de tous les êtres qui préfèrent les milieux neutres ou alcalins. Cette double influence peut le rendre très efficace, mais à la condition qu'on lui permette de l'exercer, c'est-à-dire, d'abord, que le liquide sur lequel on le fait agir ne soit pas exposé à l'air, sans quoi l'oxygène y pénètre de nouveau, ensuite qu'il ne soit pas, dès l'origine, assez alcalin pour que l'acidité résultant de l'acide sulfureux y soit à peine sensible. Toutes ces conditions essentielles au bon succès de l'expérience, et que suggère

sa véritable interprétation, ont été presque toujours négligées par les expérimentateurs. Faut-il s'étonner qu'ils soient si souvent en contradiction les uns avec les autres? Tout était différent dans leurs essais, nature des liquides, nature des microbes, doses de l'acide, présence ou absence de l'air. Que l'on ajoute à cela les incertitudes résultant de ce que très souvent on a fait agir l'acide en vapeurs, et on s'expliquera que la science soit encore aussi peu riche en conclusions positives sur un désinfectant employé depuis la plus haute antiquité, étudié scientifiquement depuis un siècle, et encore mal connu.

En 1771, lors de la peste de Moscou, si contagieuse par les effets portés par les malades, on exposa à une forte fumigation de soufre et de salpêtre des pelisses portées par des pestiférés pendant leur maladie, et on força dix malheureux condamnés à mort à les revêtir ensuite. Aucun d'eux ne contracta la maladie; ceci semble bien prouver que la fumigation avait détruit le principe virulent contenu dans les vêtements.

Cette désinfection paraît avoir été faite à sec, et de plus on ne sait rien sur la proportion de l'acide employé. Sternberg a trouvé qu'il fallait 1 p. 100 d'acide sulfureux dans l'air pour stériliser du vaccin desséché.

En présence de l'air et en l'absence de l'eau, l'acide sulfureux ne donne pas la pleine mesure de ses propriétés. Malheureusement, quand on veut étudier son action sur le vaccin liquide, on trouve que ce vaccin se coagule presque immédiatement au contact de l'acide sulfureux, ce qui, comme nous le savons, enlève presque toute leur valeur aux tentatives d'inoculation. C'était le cas de revenir aux dilutions suivant le procédé de Davaine. Personne n'y a songé, de sorte que la dose d'acide sulfureux nécessaire pour stériliser du vaccin frais nous est inconnue.

Les mêmes causes d'erreur sont sans doute intervenues, mais en apparence d'une façon moins marquée, dans les essais de stérilisation faits par Baxter sur le virus morveux et septique. Les nodules de poumon morveux étaient broyés dans de l'eau légèrement salée, puis filtrés, et enfin additionnés de proportions diverses d'acide sulfureux. Les inoculations restaient stériles quand la proportion d'acide dépassait $\frac{4}{1000}$. Du virus septique fut de même neutralisé par une dose de $\frac{3}{100}$ d'acide sulfureux, et l'aurait été sans doute pour une dose inférieure.

En dehors de ces expériences faites sur une solution d'acide sulfureux, et avec des liquides virulents que l'acide ne coagulait pas, nous ne trouvons que des résultats incertains. Sous prétexte que les désinfections, dans la pratique, s'opèrent non avec l'acide sulfureux liquide, mais avec l'acide en vapeurs provenant de la combustion du soufre, la plupart des expérimentateurs se sont mis dans les mêmes conditions pour leurs essais, et ont exposé pendant des temps variables, dans des espaces clos où ils avaient fait brûler une certaine quantité de soufre, des liquides virulents ou des infusions organiques, pour rechercher ensuite ce qu'il y était survenu. Nous avons vu, à propos du chlore, à quelles erreurs on était exposé avec ce mode opératoire et à quelles incertitudes conduisaient même les expériences qui réussissaient. Il n'y a aucune con-

clusion précise à tirer de toutes celles qui ont été faites. Néanmoins ce procédé, incorrect au point de vue théorique, peut être intéressant au point de vue pratique.

Tout ce qu'on peut tirer de plus positif des expériences faites dans cette direction par Schotte et Gartner, par Pettenkofer, par Wernick, par Wolfhugel, c'est que lorsqu'on fait agir l'acide sulfureux à sec et sur des spores, il en est, en effet, qui résistent quelquefois à des doses notables d'acide. Mais en opérant en présence d'une dose d'humidité suffisante pour assurer la transformation de l'acide sulfureux en acide sulfurique, des doses de 1 à 4 p. 100 en volume d'acide sulfureux dans l'air donnent une désinfection aussi complète qu'on peut la souhaiter dans la pratique. Elle n'est pas parfaite; Wolfhugel n'a pas eu de peine à le démontrer. Mais cela prouve que pour une désinfection complète, ce n'est pas à l'acide sulfureux en vapeurs qu'il faut s'adresser. Par contre, dans la pratique, il est commode d'avoir à sa disposition un agent aussi peu coûteux, volatil, allant chercher à demeure les germes, et exerçant sur beaucoup d'entre eux, sinon sur la totalité, une action incontestable.

La fumigation se fait très facilement par le procédé suivant. On asperge le plancher et les murs de la chambre à désinfecter, de façon à y mettre de l'humidité en excès, on calfeutre le mieux possible les ouvertures, et on y dispose en divers points sur le plancher, soutenues par deux briques, quelques-unes de ces assiettes, dites *tourtières*, faites d'une feuille de tôle à bords relevés et plissés, qu'on trouve chez tous les quincailliers. Sur chacune de ces assiettes on verse de 2 à 300 grammes de soufre en fleurs. Il faut autant d'assiettes qu'il y a de fois 10 mètres cubes dans la pièce. On verse au dernier moment un verre à liqueur d'alcool sur chaque tas de soufre, on allume rapidement tous les foyers, et on s'en va, en collant, si c'est nécessaire, des bandes de papier sur la dernière porte. On laisse la chambre close pendant vingt-quatre heures au moins, et mieux quarante-huit heures. On y pénètre alors rapidement, sans respirer, en se couvrant la bouche et les narines d'un mouchoir mouillé, et on va ouvrir une fenêtre ou deux, de façon à produire une ventilation énergique.

L'inconvénient de l'acide sulfureux est de couvrir les métaux d'une couche de rouille, de noircir un peu le cuivre et l'argent, et d'attaquer un peu les étoffes de soie. Mais rien n'est facile comme d'enlever d'abord de la chambre et de désinfecter par d'autres moyens les objets qu'elle renferme.

Zinc (*Sels de*). — Les sels de zinc ont l'avantage d'être dans quelques cas des paralysants des diastases, des poisons des cellules, et des agents désodorants par suite de l'absorption qu'ils exercent sur l'hydrogène sulfuré. Ils précipitent aussi beaucoup de matières albuminoïdes, et donnent avec elles des composés complexes difficilement putrescibles.

Aussi le chlorure de zinc a-t-il été adopté par la marine allemande, à la suite d'expériences dirigées par Pettenkofer et Mehlhausen, pour la désinfection des eaux de cale. Il forme la base de l'*eau de Saint-Luc*, résidu d'usine qu'on commence à employer à Paris comme antiseptique, et du *fluide de Burnett*, employé de même en Angleterre. Comme il est peu coûteux, qu'il agit très activement à la

dose de $\frac{1}{1,000}$ et d'une façon presque sûre à la dose de $\frac{1}{100}$, on devrait l'employer à la désinfection des selles des malades.

Dans le mémoire que nous avons souvent cité, Koch conteste au chlorure de zinc sa valeur comme antiseptique, en montrant qu'une solution à $\frac{5}{100}$ mise en contact pendant un mois avec le microbe du furoncle ne l'a pas tué. Mais comme nous l'avons dit, ce qu'on demande dans la pratique aux désinfectants, c'est surtout d'empêcher l'évolution des microbes, et il ne semble pas douteux que les sels de zinc ne produisent cet effet sur quelques-uns d'entre eux à des doses de $\frac{1}{1,000}$. Nous disons sur quelques-uns, car nous avons vu que l'aspergillus niger non seulement ne redoute pas le contact de ces sels, mais même les recherche et en a besoin.

Lister emploie en lavages sur les plaies fongueuses et dans les fistules une solution de chlorure de zinc à 8 p. 100. Il est clair qu'un liquide aussi chargé doit agir comme escharrotique, comme l'acide phénique concentré. Il vaut mieux, quand on le peut, faire des lavages plus fréquents avec une solution plus faible à 5 ou 1 p. 100.

Le sulfate de zinc est réglementairement employé à Paris pour la désinfection des fosses d'aisances au moment du curage. Il semble plus faible comme antiseptique que le chlornre, et précipite moins facilement les matières organiques.

Remarques générales. — Nous venons de passer en revue les principaux désinfectants, et il est impossible, en terminant, de ne pas faire remarquer le caractère incertain de nos renseignements, quelque soin que nous ayons mis à éliminer, par une sévère critique, ceux des travaux publiés sur ce sujet dont la valeur probante était nulle ou douteuse. Dans cette élimination, nous avons sans doute commis des erreurs. Rien n'est difficile comme de découvrir le point faible d'un travail, lorsque l'auteur, ne voyant pas les difficultés du sujet, se montre très sobre de détails, ou en donne beaucoup d'insignifiants sur les particularités les moins utiles, en passant rapidement et en aveugle sur les points qui pourraient emporter la conviction. Mais nous n'aurions conservé que les travaux vraiment bons, que nos conclusions n'auraient pas été plus fermes, à cause de la différence des microbes entrés en jeu dans les divers cas.

Les quelques renseignements que nous avons donnés, dans le courant de ce livre, sur l'action des antiseptiques sur la levure, montrent en effet que le terrain est beaucoup plus solide quand l'espèce vivante est unique et toujours la même. Cependant, là encore, il y aurait à souhaiter que les divers résultats que nous avons indiqués aient été obtenus par un même expérimentateur, ils seraient alors plus comparables. Pour donner un exemple de ce que peut devenir, dans ces conditions, l'étude des antiseptiques appliquée à une espèce déterminée, nous placerons ici les résultats d'un travail dans lequel MM. Arloing, Cornevin et Thomas, suivant la voie dans laquelle nous avons vu qu'avaient marché Baxter, Davaine, Sternberg et d'autres savants, ont étudié

l'action stérilisante de divers antiseptiques sur le microbe du charbon symptomatique. Le microbe ainsi traité était inoculé, et on jugeait de la valeur du traitement par le résultat de l'inoculation. Il y aurait bien quelque chose à dire sur la façon dont ont été conduites ces expériences, dont quelques-unes relèvent des critiques que nous avons faites à propos d'autres travaux. Il faut aussi se rappeler que l'inoculation d'un microbe est le plus mauvais moyen de savoir s'il est encore vivant, et que par conséquent les résultats que nous allons énumérer sont un peu défectueux au point de vue théorique, mais dans leur ensemble ils sont valables au point de vue pratique, et voici en quelques mots leur résumé :

Action sur le virus frais.

Ne détruisent pas la virulence.	Détruisent la virulence.
—	—
Alcool phéniqué, à saturation.	Acide phénique à 2 p. 100.
Glycérine.	— salicylique à 1 p. 100.
Ammoniaque.	— borique à 20 p. 100.
Benzine.	— azotique à 5 p. 100.
Chlorure de sodium (sol. saturée).	— sulfurique (dilué).
Chaux vive et eau de chaux.	— chlorhydrique à 20 p. 100.
Polysulfure de calcium.	— oxalique (à saturation).
Chlorure de manganèse à 20 p. 100.	Alcool salicylique (à saturation).
Sulfate de fer à 20 p. 100.	Soude et potasse à 20 p. 100.
Sulfate de quinine à 10 p. 100.	Iode.
Borate de soude à 20 p. 100.	Salicylate de soude à 20 p. 100.
Hyposulfite de soude à 50 p. 100.	Permanganate de potasse à 5 p. 100.
Acide tannique à 20 p. 100.	Sulfate de cuivre à 20 p. 100.
Essence de thérébenthine.	Nitrate d'argent à 1 p. 1000.
Ammoniaque, Acide sulfureux, Chloroforme } en vapeurs.	Sublimé à 1 p. 5000.
	Brôme, Chlore, Sulfure de carbone } en vapeurs.

Action sur le virus desséché.

Ne détruisent pas la virulence.	Détruisent la virulence.
—	—
Acide oxalique.	Acide phénique à 2 p. 100.
Permanganate de potasse.	— salicylique à 1 p. 1000.
Soude.	Nitrate d'argent à 1 p. 100.
Chlore, Sulfure de carbone } en vapeurs.	Sulfate de cuivre à 20 p. 100.
	Acide chlorhydrique à 20 p. 100.
	Acide borique à 1 p. 100.
	Alcool salicylé à saturation.
	Sublimé à 1 p. 5000.
	Brôme en vapeurs.

Il y a dans ce tableau des bizarreries qui doivent provenir d'erreurs expérimentales. Ainsi il est surprenant que le chlore agisse autrement sur le virus frais que sur le virus desséché; mais on voit pourtant combien nous serions avancés si nous pouvions dresser un tableau pareil pour chaque espèce vivante et pour chaque virus; c'est évidemment à cela qu'il faudra en arriver un jour.

BIBLIOGRAPHIE

N. Jalan de la Croix. — Das Verhalten der Bacterien des Fleischwassers gegen eiwige Antiseptica. *Archiv. f. experiment. Pathol.*, 1881, t. XIII, p. 175.

P. Kuhn. — Ein Beitrag zur Biologie der Bakterien. *Inaug. Dissert.* Dorpat, 1879.

Salkowski. — Über die Antiseptische Wirkung und der Salicylsaure und Benzoesaure. *Berl klin Wochensch.*, 1875, n° 22.

W. Hamlet. — On the action of compounds inimical to bacterial life. *Journal of the Chem., Soc.*; juin 1881, p. 326.

G. Polli. — *Des propriétés antifermentatives de l'acide borique.* Paris, Delahaye, 1877.

H. Bouley. — Rapport sur l'usage alimentaire du sel de conserve. *Recueil des travaux du comité consultatif d'hygiène publique*, t. VIII, 1879.

I. Wernitz. — Über die Wirkuug der Antiseptica auf ungeformte Fermente. *Dissert. Inaug.* Dorpat, 1880.

Dujardin-Beaumetz et Hirne. — Des propriétés antiputrides des solutions d'hydrate de chloral et de leur application à la thérapeutique. *Bulletin de la Soc.méd. des hôpitaux*, 11 avril 1873.

J. Personne. — L'action du chloral sur les matières albuminoïdes. *Bull. Acad de Méd.*, 10 février 1874.

Mehlhausen. — Versuche über Desinfection geschlossener Raume *Bericht. d. Cholera commission*, 1879.

Sternberg. — Experiments designed to test the value of certain gaseous and volatile desinfectants. *Natioual Board of Heallh Bulletin*, 1881, t. I, p. 219, et 1882, p. 21. *Revue d'hygiène*, 1880, p. 810.

Davaine. — Recherches relatives à l'action des substances antiseptiques sur le virus de la septicémie. *Gaz. Méd.*, 1874.

Dr Paquet. — *Bulletin général de Thérapeutique*, 1868.

P. Bert et Regnard. — Influence de l'eau oxygénée sur la fermentation. *Gazette médicale*, 1880, et *Comptes rendus*, 22 mai 1882.

Damaschino. — Du traitement du muguet par l'eau oxygénée. *France médicale*, janvier 1881.

P. Bert et Pean. — *Comptes rendus*, 3 juillet 1882.

Boillot. — Note concernant l'action de l'ozone sur les substances animales. *Comptes rendus*, 13 déc. 1875.

Chappuis. — Action de l'ozone sur les germes contenus dans l'air. *Bull. Soc. chim.*, 1881, p. 290.

Chéron. — De l'acide picrique et de ses propriétés antiseptiques. *Journal de Thérapeutique de Gübler*, 1880, p. 121.

Dougall. — Carbolic and zymotic diseases. *The Lancet*, 30 août 1873. — On putrefiers and antiseptics. *Medical Times and Gazette*, 27 avril 1872.

Davaine. — Recherches relatives à l'action des substances antiseptiques sur le virus de la septicémie. *Gaz. Méd.*, 1874.

Vallin. *Traité des désinfectants.* Paris, G. Masson, 1882.

Schotte et Gartner. — Wie fiel Carbolsaure und wie viel Schweflige Saure in Gasform ist nothig fur Todtung Kleinsten Lebens. *Deutsch. Vierteljahrschr. f. offentl. Gesund.*, 1880, t. XII.

Wolfhugel. — Uber den Werth der Schwefligen saure als Desinfections mittel. *Mittheil. aus dem Kaiserslich Gesundheits amte*, t. I, Berlin, 1882.

Arloing, Cornevin et Thomas. — Note relative à la conservation et à la destruction de la virulence du microbe du charbon symptomatique. *Lyon médical*, 11 juin 1882, et *Recueil de médecine vétérinaire*, 15 mai 1882, p. 467.

CHAPITRE LXXIV

CONCEPTION PHYSIQUE DE LA VIE

Nous venons d'étudier avec détail les ferments dans leur rôle d'agents destructeurs de la matière morte. Il y aurait maintenant à les envisager comme agents de désorganisation des tissus vivants, comme agents producteurs de la maladie et de la mort. Malheureusement, sur cette question importante, la science n'est pas encore faite. Elle est encombrée de résultats douteux, d'observations mal faites, de raisonnements mal venus, de déductions capricieuses; elle ne possède qu'un très petit nombre de travaux sérieux, dont les principaux enseignements ont été résumés dans les pages qui précèdent ou vont être exposés tout à l'heure; en d'autres termes, malgré les efforts accumulés dans cette direction depuis que la médecine existe, il n'y a pas encore matière à un livre, il n'y a encore matière qu'à quelques pages.

Il faut reconnaître que le sujet est plus difficile que celui que nous avons eu à traiter. Rien ne nous donne, *a priori*, le droit d'assimiler l'organisme aux vases inertes dont nous nous sommes servis jusqu'ici. L'observation la plus superficielle montre au contraire qu'un être vivant quelconque manifeste, à l'égard des causes qui tendent à détruire son équilibre, une sorte de résistance spéciale qui se proportionne si bien au mode et à la puissance de l'action qu'il s'agit d'éliminer, qui se montre quelquefois en quelque sorte si habile et si intelligente que la médecine y a vu longtemps l'influence d'une force particulière, d'essence supérieure à l'animal dont elle conduisait la vie et dont elle organisait la résistance à la mort.

Théories vitalistes. — Dans cette conception, vieille comme le monde, qui a été en se transformant avec les siècles, et a fini par se résumer dans le nom de *vitalisme*, les manifestations vitales s'accomplissent en effet entièrement en dehors des lois de la physique et de la chimie. Elles sont régies, non seulement dans leur essence, mais dans leurs modes les plus divers, par une puissance occulte, mystérieuse, impossible à étudier parce qu'elle ne se localise nulle part, et à laquelle on a appliqué les noms d'*archée*, de *principe vital* et même le nom plus étrange d'*âme physiologique*.

C'est Lavoisier qui a porté le premier coup à cette théorie en montrant que

l'entretien de la chaleur animale dans les êtres vivants se faisait au moyen de phénomènes physico-chimiques absolument identiques à ceux qu'on voyait se produire dans les corps bruts et inanimés, que respiration et combustion étaient synonymes, et que la chaleur animale, au lieu d'être de la chaleur innée, comme le voulaient Aristote et Galien, ou bien le résultat d'une action spéciale, d'une action particulière du principe vital, comme on le pensait avant Lavoisier et comme l'ont formellement dit depuis Barthez et son école, était engendrée dans l'être vivant par un mécanisme absolument identique à celui que nous utilisons dans nos foyers. Il faut entendre Lavoisier lui-même développer cette idée dans son ferme et clair langage. Dans la respiration comme dans la combustion, c'est l'air de l'atmosphère qui fournit l'oxygène et le calorique; mais comme, dans la respiration, c'est la substance même de l'animal, c'est le sang qui fournit le combustible, si les animaux ne réparaient pas habituellement par les aliments ce qu'ils perdent par la respiration, l'huile manquerait bientôt à la lampe, et l'animal périrait, comme une lampe s'éteint lorsqu'elle manque de nourriture.

Toutefois, il fallait plus que cette théorie de Lavoisier pour entraîner les convictions et éliminer de la science les idées vitalistes. Reconnaissons en effet que si on peut trouver dans les lois de la physique et de la chimie les sources profondes de la chaleur nécessaire à l'entretien et à la marche du mécanisme fonctionnel des êtres vivants, cette activité se manifeste par des forces spéciales qui semblent n'être plus du ressort de la chimie, et qui se montrent si variées, si multiples, si ingénieuses en apparence et en réalité, qu'il est difficile d'y voir quelque chose d'analogue aux forces aveugles de la nature; ou bien, si on admet leur identité foncière avec ces dernières forces, de ne pas en attribuer la direction à un principe particulier résidant dans le corps. On peut, en d'autres termes, accorder que le principe vital utilise les forces de la physique et de la chimie, et cependant ne pas renoncer à admettre son existence.

Chose singulière, c'est à un vitaliste convaincu qu'il fut donné de porter un nouveau coup à la théorie du vitalisme, et d'ébranler cette idée d'un principe recteur présidant à la marche régulière des actes de l'économie. Bichat, en créant l'anatomie générale, fit pénétrer dans les esprits, pour ainsi dire malgré lui, cette conviction qui a été en s'affermissant depuis, que tout phénomène de l'organisme devait être rattaché aux propriétés physiologiques d'un tissu, aussi étroitement qu'un phénomène physique ou chimique aux propriétés physiques ou chimiques d'une substance déterminée.

Cette démonstration enlevait au principe recteur la liberté et l'indépendance d'allures qu'on lui avait crues nécessaires et qu'on lui avait toujours libéralement accordées. Elle obligeait à le doter d'une complexité de fonctions au moins égale à celle de l'organisme, ou bien à donner un principe recteur spécial au tissu nerveux, un autre au tissu musculaire, etc. Dans le premier cas, un principe recteur unique présidant à une foule d'actions diverses ne pouvait guère être présenté comme une explication des phénomènes de l'organisme : c'eût été superposer une complication à une autre. Dans le second, il restait à comprendre comment ces principes vitaux divers pouvaient s'entendre entre eux.

Dans les deux hypothèses, on en venait tout droit à l'inutilité de cette conception vitaliste.

Idée moderne de la vie. — Ce résultat a été d'autant plus sûrement atteint que, depuis Bichat, cette conception aurait dû se compliquer de plus en plus pour suivre les progrès de la science. L'anatomie aidée de la micrographie a en effet poussé de plus en plus loin l'analyse des tissus, et la physiologie a localisé, d'une façon de plus en plus précise, les propriétés diverses de l'ensemble desquelles résulte le fonctionnement vital, si bien qu'on a été conduit à supprimer pour ainsi dire la vie du tissu, et à considérer directement les éléments organiques eux-mêmes. La vie n'est plus alors quelque chose de superposé à l'ensemble des organes, elle les pénètre, elle n'est plus la force qui fait mouvoir et maintient en bonne harmonie les divers rouages de l'organisme, elle est devenue le mécanisme lui-même. Tout individu, à quelque espèce qu'il appartienne, est un ensemble d'éléments autonomes, possédant des propriétés physiologiques particulières qui se montrent corrélatives de leur constitution chimique, des conditions physiques qui les entourent, et du milieu dans lequel ils vivent. Ces éléments pourtant ne sont pas libres comme les cellules de nos ferments, ils ont des connexions réciproques, réagissent les uns sur les autres, de telle sorte que lorsque l'un deux entre en fonctions, il en résulte une série d'actions simultanées ou successives, dont la marche régulière ou irrégulière, mais toujours fatale, constitue la santé et la maladie, et dont l'ensemble est ce qu'on appelle la vie.

Sait-on mieux ce que c'est que la vie, pour l'avoir ainsi localisée. Non, sans doute; rien ne nous apprend pourquoi telle propriété physiologique résulte de telle ou telle texture de cellules, de telle ou telle constitution de milieu. Mais ces relations de causalité sont étrangères à la vraie science. Satisfaite d'avoir constaté une coexistence, une corrélation entre une structure et une fonction, elle ne va pas plus loin, parce que cela lui suffit pour établir un raisonnement et asseoir une conclusion qui lui permet de faire un nouveau pas. Dans les sciences, dit une parole profonde de l'abbé Haüy, les choses sont censées être telles qu'elles se présentent à nos observations.

Notion de la maladie. — Or, voici le progrès qui est résulté de cette conception physique des phénomènes de la vie, c'est que, la vie se trouvant liée à une certaine constitution physique et chimique, la maladie nous apparaît tout naturellement comme la résultante de modifications survenues dans cette constitution. Ainsi la conception qui supprimait la force vitale comme une entité extérieure au corps supprimait aussi la maladie comme entité distincte, séparable, et entrant en lutte avec la force vitale dans l'organisme. En réalité, ces deux idées de force vitale et de principe morbide n'en étaient au fond qu'une seule, et on aurait pu les confondre en supposant que la force vitale pourrait être malade elle-même. C'eût été transporter la notion et l'étude de la maladie dans le monde métaphysique. L'étrangeté de la conception eût fait ouvrir les yeux et on l'a rejetée. On a préféré créer deux entités distinctes entrant en lutte l'une avec l'autre, quelque chose comme le principe du bien

et le principe du mal, que toutes les religions nous montrent à l'œuvre dans la nature. La médecine ne pouvait oublier qu'elle avait eu un temple païen pour berceau.

Vers le milieu du siècle dernier, on regardait encore le principe morbide comme pénétrant le corps tout entier, et l'homme vivant comme renfermant en quelque sorte en lui la maladie qui devenait une modalité de sa vie. Le premier progrès a consisté à la localiser dans les organes. On se rappelle que Bichat distinguait la mort par le cœur, la mort par le poumon et la mort par le cerveau. Cela ne suffisait pas encore : le cœur étant malade, par exemple, on a voulu savoir si c'étaient ses nerfs, ses vaisseaux, ses enveloppes ou ses muscles qui avaient été atteints, et on est ainsi arrivé graduellement à des analyses de plus en plus fines, de sorte qu'aujourd'hui on est conduit, à propos de la maladie comme à propos de la santé, à chercher l'action sur l'élément histologique au lieu de s'arrêter à l'action sur l'organe, et à considérer de plus en plus l'histologie comme le fondement de la pathologie.

Les cellules devenues ainsi les éléments actifs du corps humain, on avait devant soi non plus des abstractions métaphysiques, mais des phénomènes visibles, saisissables. La vie physiologique résultait du fonctionnement régulier des cellules, et, par suite, de leur constitution normale; leurs perturbations donnaient naissance à la maladie et devaient se manifester par des signes extérieurs. Ces signes ne sont pas tous visibles à l'œil, même armé du plus fort microscope. Mais une étude suffisamment approfondie, au moyen des instruments ou des forces que les sciences voisines mettent à la disposition de la physiologie, devait pouvoir les mettre en évidence. Il ne s'agissait que d'étudier les propriétés des tissus par des moyens appropriés. On sait quel rôle brillant ont joué dans ce sens l'école française et son plus illustre représentant, Cl. Bernard. Acceptant dans ce qu'ils avaient de bon et de vrai les travaux qui fondaient la théorie cellulaire, elle a réclamé contre le rôle par trop prépondérant que l'on attribuait à la cellule et s'est attachée à ne jamais séparer cet élément agissant du milieu où s'exerce son action. Pour elle, la maladie appartient essentiellement à l'être vivant, en est inséparable et tient à une modification physique ou chimique, se produisant dans l'intimité des tissus sur certains éléments histologiques, se répercutant de là sur d'autres en vertu de lois régulières, et faisant ainsi passer l'ensemble par une série d'états dont chacun est la conséquence forcée du précédent. Et la médecine sera fondée comme science le jour où, étant donnée une certaine modification originelle dans un certain tissu, on pourra écrire d'avance la série de phénomènes dont l'organisme sera successivement le théatre.

En réalité, l'image que nous venons d'employer n'est pas très exacte. La chaîne des phénomènes n'est pas une chaîne ouverte. L'organisme est un ensemble trop complexe pour qu'elle ne se ferme pas fréquemment par suite des répercussions organiques, des réactions mutuelles des cellules et des organes atteints. Mais il n'en est pas moins vrai qu'elle a toujours un point de départ, que la maladie a une cause originelle, un centre d'irradiation résidant dans une ou plusieurs cellules atteintes. Le jour où la médecine aura appris à se connaître, elle ne s'attachera plus à couper les anneaux de la chaîne principale

ou des chaînons transverses, elle ira droit à l'anneau initial. Elle ne sera plus comme elle est aujourd'hui une médecine de symptômes. Elle sera une médecine de causes.

Étude des propriétés des cellules. — Arrivés à ce point, nous comprenons facilement le bénéfice que la médecine ainsi comprise pouvait retirer de l'étude des infiniment petits. Cette science, ou plutôt cet art, dont toute l'histoire a consisté à traduire dans ses conceptions et ses tentatives les découvertes qui se faisaient autour d'elle, ne pouvait rester indifférente à une étude qui conduisait à la connaissance des propriétés profondes de cellules analogues à celles qu'elle se trouvait conduite à envisager dans le corps humain. Avantage considérable, ces cellules des infiniment petits sont absolument autonomes, n'ont entre elles aucun lien que leurs besoins communs, sont libres d'attaches sanguines ou nerveuses ; on est maître pour elles des conditions de développement et de milieu, elles se reproduisent abondamment à la volonté et sous l'œil de l'observateur, elles sont accessibles à l'expérience directe et, bien interrogées, elles livrent tous leurs secrets. Or, nous avons vu et développé dans le courant du livre cette idée que ces secrets sont les secrets de toute vie cellulaire, et forment le fondement de la connaissance des tissus vivants comme de la connaissance du mécanisme des fermentations.

Les études que nous avons faites sont donc jusqu'à un certain point des études physiologiques et médicales. Mais il y a plus, ces mêmes microbes, que nous connaissons, peuvent envahir l'organisme, et là, par le simple mécanisme de leur fonctionnement vital, en poursuivant la satisfaction des besoins que nous leur connaissons, disputer leurs moyens d'existence aux cellules normales de l'organisme et amener dans l'animal envahi des désordres plus ou moins graves. Ces maladies à microbes, dont le nombre, il y a quelques années, était si restreint, deviennent chaque jour plus nombreuses, et embrassent déjà la presque totalité des maladies de la grande pathologie. On peut affirmer que jamais, en aucun siècle, ne s'est ouverte pour la médecine une pareille source de découvertes et de progrès.

Il faut reconnaître que la médecine s'est abandonnée à ce courant. Les travaux se multiplient. Ils ne sont pas tous également bons. Il en est encore beaucoup trop, qui témoignent beaucoup plus de l'envie de bien faire, ou, moins encore, du désir de publier quelque chose que de la connaissance des conditions à remplir pour cela. Mais la voie est ouverte, et quand on songe qu'il y a vingt ans, il eût été impossible d'écrire une ligne du présent livre, qui date du mémoire sur les générations dites spontanées, publié par M. Pasteur en 1862, on est amené à espérer qu'un avenir prochain nous réserve une riche moisson.

Pourtant, tout en applaudissant aux découvertes déjà faites et à celles qui se préparent, beaucoup de médecins font encore des réserves sur l'application possible aux choses de la vie des résultats obtenus au laboratoire. Ils ne consentent pas plus que les vitalistes du commencement du siècle à voir dans l'organisme un milieu inerte, et sur deux points surtout les phénomènes vitaux leur semblent placés sur un autre terrain que celui sur lequel ceux qu'ils ap-

pellent des *chimistes* voudraient les amener. L'un est relatif à la résistance que l'être vivant organise, comme nous l'avons dit plus haut, contre les causes de trouble; l'autre, à l'intervention dans les phénomènes morbides, des questions d'hérédité qui paraissent impliquer la conservation, au travers des phénomènes de la génération, de quelque influence mystérieuse, extérieure jusqu'à un certain point à l'organisme, puisqu'elle paraît persister et s'exercer en dehors de lui.

Sur le premier point, il n'est pas douteux qu'il n'y ait quelquefois, au point de vue de la résistance à la maladie, des différences profondes entre deux êtres en apparence identiques. La langue médicale courante est imprégnée de cette idée, qu'elle traduit par les mots de résistance vitale, de réceptivité organique, d'idiosyncrasie, de constitution médicale régnante, de diathèses morbides. Tous ces mots correspondent, sous des formes et avec des sens un peu divers, à une même notion. Ils ne disent rien, remarquons-le bien, sur la valeur absolue de la force que l'organisme oppose à ses causes de trouble, mais ils témoignent que cette force est variable d'un individu à l'autre, et que pour le médecin un être ne ressemble pas à un autre être, tandis que pour le chimiste deux vases peuvent toujours être rendus pareils dans leur contenant, leur contenu, et dans les phénomènes dont ils sont le siège.

Pour les questions d'hérédité, la difficulté est de nature différente. Un père meurt tuberculeux, laissant un enfant dont les premières années sont florissantes et qu'on a le droit de croire affranchi de toute affection héréditaire, lorsque tout à coup cet enfant, élevé à l'abri de toute fâcheuse influence, dont la mère est restée saine, que son père n'a peut-être jamais vu, se trouve avoir à payer en quelques années sa dette à cette influence morbide puisée dans ses origines. Aucune théorie médicale ne donne une explication bien nette de ce fait, mais toutes en tirent la conclusion qu'il y a dans l'organisme autre chose que des cellules, ou bien, si on veut, que ces cellules ne doivent pas être envisagées seules, et, qu'il y a, les dominant, quelque chose qui dans l'état de la science actuelle doit nous paraître hors de notre portée.

Il y a dans l'homme une sorte de faiblesse naturelle, qui le porte à accepter aveuglément et sans protester toutes les conceptions qui mettent une borne à ses efforts et à son génie. Heureusement cette borne va en se reculant de plus en plus. Voyons s'il ne serait pas trop audacieux d'essayer de la déplacer sur les deux points que nous avons signalés; examinons de près ces expressions de résistance vitale, de prédisposition organique, de diathèse et d'hérédité morbides; tâchons de voir ce qu'elles contiennent de vérité, et si on ne peut pas les dépouiller de ce caractère métaphysique qui a présidé à leur création et dont elles conservent toujours quelque chose.

Revenons pour cela à la notion que nous nous sommes fait de la maladie, lorsque nous avons été amenés à la localiser dans la cellule, et demandons-nous par quelles voies la cellule peut être atteinte. Ces voies sont nombreuses.

La constitution chimique et la texture de la cellule peuvent d'abord être modifiées, et il peut en résulter des perturbations, non seulement dans ses fonctions actuelles, mais encore dans son mode de prolifération. Une cellule ren-

ferme, en effet, pour parler un langage un peu abstrait, mais encore bien intelligible, non seulement l'*être*, mais aussi le *devenir*. Prenons une feuille de chêne, ses cellules une fois formées sont destinées à remplir certaines fonctions en conservant à peu près leurs formes. Qu'un point de sa surface vienne à être piqué par l'insecte producteur de la noix de galle, et le trouble fonctionnel produit au point atteint va réveiller autour de lui des forces endormies qui, se mettant à l'œuvre, vont produire physiologiquement un tissu nouveau dont l'origine sera pathologique. Ce sera là un de ces développements hétérologues sur lesquels Virchow a si fortement appelé l'attention, qu'il a montrés jouant un si grand rôle dans la production des maladies de l'organisme. La fécondation et la production du fœtus se rattachent tout naturellement à cet ordre de phénomènes.

Leur origine profonde est une certaine modification physique ou chimique dont la connaissance devra rendre compte de l'action physiologique observée. Prenons-en un exemple simple. On empoisonne un animal par l'oxyde de carbone. La vie de l'ensemble disparaît, tout l'échafaudage organique s'écroule brusquement. Quel est le *primum movens* de cette série de phénomènes? La cause première est uniquement, ainsi que M. Bernard l'a démontré, l'action du gaz toxique sur les cellules qui constituent les globules du sang. L'oxyde de carbone en chasse l'oxygène et, formant avec l'hémoglobine une combinaison plus stable que ne le fait ce gaz, il se substitue à lui, volume à volume, et ne peut plus être déplacé. Nous avons donc réduit l'action physiologique de l'oxyde de carbone à un phénomène physico-chimique déterminé. C'est malheureusement à peu près le seul cas où cela soit possible, et l'on comprend pourtant que c'est dans cette voie seulement que l'on trouvera la solution de tous les problèmes physiologiques, pathologiques et même thérapeutiques. Car ce sera seulement quand on connaîtra bien les phénomènes physico-chimiques profonds qui donnent lieu à l'action pathologique, qu'on pourra les combattre et en faire naître d'autres qui arrêtent leur développement.

Mais ce n'est pas seulement dans la texture d'un élément histologique que peut se produire la lésion organique d'où résulte la maladie, elle peut exister tout aussi bien dans le milieu qui entoure cet élément. Les cellules baignées par un sang imprégné d'oxyde de carbone perdent rapidement toutes leurs propriétés; ou bien, pour citer un exemple plns délicat et plus frappant, le nerf moteur touché par un sang renfermant du curare cesse de pouvoir remplir ses fonctions. L'animal curarisé reste absolument inerte, et l'état dans lequel il se présente est une des meilleures preuves que l'on puisse citer contre l'unité de la vie telle que l'entendaient les anciens physiologistes. On ne peut dire, en effet, s'il est alors mort ou vivant, à envisager les choses en masse. Il est mort, car, abandonné à lui-même, il ne fait aucun mouvement et entre bientôt en décomposition. Il est vivant, pourtant, car, si on pratique sur lui la respiration artificielle assez longtemps pour produire l'élimination par combustion de la substance toxique, il peut revenir à lui. Cette contradiction s'efface, si on transporte la vie au point où elle réside réellement, dans les cellules des tissus. On constate, en effet, que toutes ces cellules, sauf celles du nerf moteur, ont gardé leurs propriétés fonctionnelles, que celles du nerf moteur lui-même ont conservé intactes leurs propriétés physiologiques et électrotoniques; seul,

le milieu est impur, et, en le purifiant, on rend au nerf ses fonctions engourdies.

Les deux cas que nous venons d'examiner ne sont pas aussi distincts que la division que nous venons d'en faire pourrait le laisser croire. Il est clair que dans les deux, c'est la constitution de la cellule qui est atteinte par suite de modifications physico-chimiques survenues dans la nature du milieu dans lequel elle s'alimente. Si nous voulons chercher des analogies à ces phénomènes dans le monde des infiniment petits, il nous faut nous adresser aux perturbations que nous savons être produites dans les cellules des ferments par suite de changements dans les conditions physico-chimiques dont on les entoure. L'histoire des antiseptiques nous a montré des microbes atteints par voie chimique dans leurs conditions de nutrition, ne périssant pas toujours, mais menant une vie pénible et difficile qui quelquefois aboutit à la mort, quelquefois les amène à triompher du danger qu'on leur a fait courir : malades par conséquent, et revenant quelquefois à la santé. L'histoire de l'action de la chaleur et de la création de vaccins par cette influence nous a montré, d'un autre côté, le jeu d'une action physique, et nous a fourni, en outre, une notion importante, à savoir la faculté qu'ont ces cellules affaiblies par quelque point, malades, atténuées dans leurs propriétés, de proliférer quand même et de fournir d'autres cellules, nées d'elles et conservant quelquefois pendant plusieurs générations, mais au moins pendant la première, la faiblesse congénitale des cellules qui leur ont donné naissance.

Sans doute nous ne savons pas comment se traduisent, dans la constitution et les propriétés physiologiques de la cellule, ces changements physico-chimiques du milieu intérieur. Ces changements ne sont pas par eux mêmes la santé ou la maladie; la santé ou la maladie n'est que leur traduction physiologique, et nous ne savons pas comment se fait la traduction; mais nous avons le droit de mettre en regard cette cause et cet effet, et c'est là l'important. Nous faisons un pas dans la solution du problème. Un autre pas viendra plus tard. La science se compose d'une série de réponses claires à des séries de questions de plus en plus subtiles. Arrêtons-nous à celle que nous venons de poser.

Nous y voyons, et c'est ce qui nous ramène aux deux cas que nous examinions tout à l'heure, qu'une cellule peut être malade dans un milieu sain : telles nos cellules de virus vaccins, qui peuvent changer au moins une fois de milieu sans perdre leur degré d'atténuation, et donner des êtres qui leur ressemblent. Nous voyons aussi qu'une cellule bien portante peut devenir malade quand on change les conditions de son milieu. Ce sont nos cellules mises en présence d'antiseptiques. Il est bien probable que ces cellules atteintes ainsi dans leur vitalité pourraient donner aussi des vaccins atténués. Quelques-uns des faits que nous avons cités sur les virus parlent en faveur de cette conséquence, mais aucun ne l'a encore établie d'une façon irrécusable.

Revenons maintenant à l'étude des autres voies par lesquelles peut être atteinte une cellule appartenant à un organisme vivant. Jusqu'ici, nous ne lui avons opposé que des forces physico chimiques, inertes par conséquent. Mais il peut aussi arriver qu'il se développe à côté d'elle des cellules parasites qui lui disputent le terrain et lui rendent la vie difficile, soit en lui prenant ses aliments, soit en sécrétant autour d'elle des substances nuisibles à la vie

des tissus. Ce que nous avons dit des ptomaïnes, du narcotique sécrété par le microbe du choléra des poules, démontre la réalité dans quelques cas de cette seconde cause de troubles; quant à la première, elle résulte de l'ensemble des notions accumulées dans ce livre.

Il est évident que le cas est ici plus compliqué que dans les exemples de tout à l'heure. Ce n'est plus un composé chimique, un corps mort que nous faisons agir, c'est une vie que nous opposons à une autre vie. Mais comment venons-nous d'envisager la vie? Comme un ensemble de propriétés de cellules. Or, il se trouve que celles des infiniment petits nous sont ou peuvent nous devenir parfaitement connues. Ce ne sont pas des cellules ayant, comme celles de l'organisme, des connexions profondes les unes avec les autres et possédant des propriétés qui sont fonction de toutes leurs relations. Ce sont des cellules autonomes, indépendantes, qu'on est sûr de retrouver toujours les mêmes dans ces conditions, et ces conditions, on en est maître ou on le devient en appliquant à ces êtres les méthodes expérimentales inaugurées par M. Pasteur.

On peut donc dire que ces ferments peuvent être connus à l'égal des réactifs chimiques. De ce côté-là, au moins, le problème que nous nous sommes posé tout à l'heure se simplifie un peu, et nous avons vu, à propos de la maladie du charbon, jusqu'à quel degré de perfection on est allé dans cette étude des cellules du parasite. Il est évident qu'un jour viendra aussi où il se simplifiera sous son autre face, et où, malgré leur complexité, les propriétés des cellules de l'organisme seront aussi bien élucidées que celles des infiniment petits. Lorsque nous en serons pour toutes au même point, la réaction entre deux cellules sera pour nous ce qu'est aujourd'hui la réaction entre l'oxygène et l'hydrogène; ce que nous appelons pour celles-ci l'affinité pourra continuer sans inconvénient à s'appeler pour celles-là la vie. Quant à la cause active, dans les deux cas, elle nous échappera toujours. Comme nous le disions tout à l'heure, nous ne recherchons que des coïncidences, et ce que nous appelons cause est tout simplement une expression abrégée pour dire que deux faits sont connexes et s'accompagnent toujours.

Si nous nous reportons maintenant, avec ce que nous venons d'apprendre, aux questions que nous nous sommes posées dans le courant de ce chapitre, nous verrons que les notions de résistance organique, de diathèse et d'hérédité morbides, peuvent être dépouillées de leur caractère métaphysique et rattachées, non à leur cause profonde, que comme nous le disions tout à l'heure nous ne connaîtrons jamais, mais à des phénomènes visibles, saisissables et non plus à une abstraction. Vis-à-vis du même virus, de la même maladie, tous les animaux ne se comportent pas de même. Quoi de plus naturel! Si la maladie est une lutte entre deux cellules, ou une lutte entre une cellule et ses conditions de milieu, pourquoi la victoire serait-elle toujours du même côté, lorsque visiblement, au moins à l'origine, le combat reste indécis? Nous voyons tant de circonstances qui peuvent faire varier les forces en présence, vivantes et inanimées!

Et il n'est pas besoin que la variation soit grande. Nous avons longuement insisté, au chapitre VIII, sur ce fait que, dans un organisme inoculé par la bactéridie charbonneuse, la plus petite modification dans les propriétés des cellules

de l'organisme ou de celles du parasite se traduit par la victoire ou la défaite du microbe virulent.

S'il en fallait un autre exemple, nous le trouverions dans une maladie analogue aux maladies épiphytiques, mais où cette lutte s'accomplit dans des condition de clarté saisissante, la gale! On sait qu'elle est produite par un acarus, comme le charbon par la bactéridie, mais pour l'une comme pour l'autre, le parasite n'est pas seul à jouer un rôle.

Delafond et Bourguignon ont démontré, avec une netteté très grande, que la gale ne s'implante pas indifféremment sur tous les sujets. Des moutons bien portants, bien propres, bien entretenus résistent d'une façon absolue à la colonisation des acarus. Soumis à un régime débilitant, ces mêmes moutons prennent au contraire très facilement la maladie. Ramenés à la santé par un bon régime, ils se guérissent tout seuls, et se refusent à tout ensemencement nouveau.

Veut-on trouver dans ces faits une question de résistance vitale ? On le peut à la condition suivante : c'est de ne voir dans ces mots autre chose que l'expression de ce fait, que tous les sols ne conviennent pas à toutes les cultures. Mais alors le mot de résistance vitale est dangereux. Que si, au contraire, on le prend dans le sens généralement adopté, si on veut y voir l'intervention d'une force défendant l'organisme contre toute cause de trouble, nous demandons ce qu'il signifie dans l'exemple choisi. Il y a là deux êtres en présence, vivants tous les deux, et dont les résistances vitales ont des intérêts opposés, car l'acarus tend à ne pas mourir autant que le mouton à n'être pas malade. Il ne s'agit pas ici de considérer un organisme seul, luttant contre un principe insaisissable et lui opposant des forces de même nature. Il s'agit d'une maladie produite par le conflit de deux espèces ennemies. Pourquoi porter la lutte sur le terrain métaphysique, et ne pas la voir où elle est réellement, dans les résistances d'ordre physique et chimique, d'ordre physiologique même, si on veut, que l'une oppose à l'autre. Un changement dans la circulation sanguine superficielle du mouton dans la réaction de sa sueur, dans l'épaisseur de sa couche épidermique, dans la rapidité de sa desquamation, dans l'activité de sa perspiration cutanée, dans les soins qu'on lui donne ou l'abandon où on le tient, expliquent suffisamment les changements dans sa résistance à l'invasion. L'acarus, de son côté, doit trouver à s'implanter ou à se maintenir dans son terrain de culture des difficultés qu'il ne surmonte qu'à force de bonne santé, de bonne alimentation ou de fécondité, toutes choses qu'il puise dans le sol vivant où il s'est implanté. Pour peu que le mouton résiste au point atteint, sa victoire est certaine, sa résistance augmente ses forces, et diminue celles de l'ennemi. Pour peu qu'il cède au contraire, il sera obligé de céder de plus en plus. Mais il n'y a là rien autre chose que le fait que nous énoncions tout à l'heure, tout terrain ne convient pas à toute culture. Les meilleurs jardiniers ne réussissent pas toutes leurs plantations et n'ont jamais songé pour cela à accuser la résistance vitale de leur sol, pas plus qu'ils n'accusent celle de leurs laitues quand elles se laissent manger par les limaces.

Voilà pour les questions de réceptivité organique. Celles d'hérédité organique ne sont pas moins claires. La bactéridie atténuée est une bactéridie, mais elle

a conservé de ses ascendants une prédisposition héréditaire à céder à des influences extérieures auxquelles la bactéridie virulente résiste. De même, la cellule de levure basse est incapable, quand elle a conduit à bien quelques brassins, d'en pousser d'autres au même degré, elle les laisse envahir par les parasites. Elle a conservé de ses ascendants une sorte de faiblesse constitutionnelle qui assure avec le temps sa disparition, mais dont on réussit à la guérir, comme nous l'avons vu, en la faisant vivre pendant quelques heures à une température un peu plus élevée. Le brasseur ne s'est pas contenté de dire, en observant la perte de ses brassins « c'est une prédisposition héréditaire, croisons-nous les bras », il a cherché et trouvé le remède. Voilà l'avantage de ne pas rester dans la métaphysique.

Toutes les généralités que nous venons de développer n'auraient qu'une portée médiocre, si nous n'essayions de les préciser par quelques faits .Nous allons les emprunter à l'histoire de trois maladies. Dans la première, la septicémie, nous verrons l'organisme aux prises avec un microbe qui l'habite constamment, mais sans l'envahir, qui par conséquent est d'ordinaire refoulé, repoussé, mais qui, dans certains cas, sous certaines influences, l'emporte sur les cellules normales et les refoule à son tour. Nous aurons à rechercher quelles causes, presque insaisissables quelquefois, et qu'on aurait le droit de croire mystérieuses, si la science ne les avait aussi bien élucidées, font pencher la victoire dans un sens ou dans l'autre. Ce sera la mise à l'épreuve, la plus nette que nous puissions choisir, de nos vues sur les questions de résistance vitale dans les maladies où interviennent des infiniment petits.

Au sujet des questions d'hérédité, nous étudierons deux maladies des vers à soie, l'une dans laquelle nous verrons en jeu l'hérédité du germe morbide, transmettant directement à une seconde génération le mal puisé dans la première. Cette sorte d'hérédité est pour ainsi dire passive et résulte de la transmission matérielle d'un parasite, opérée par le jeu des forces naturelles. La maladie de la flacherie nous montrera une hérédité active, fonctionnelle, existant déjà dans les cellules constitutives du germe dont doit sortir la seconde génération, une sorte d'hérédité, en un mot, analogue à celle de la tuberculose. Nous verrons même à quel point cette seconde maladie ressemble à certaines maladies humaines.

CHAPITRE LXXV

SEPTICÉMIE

La septicémie est une maladie humaine, qui apparait rarement comme maladie simple, isolée, mais qui est d'ordinaire une complication redoutable d'autres affections. Elle sévit de préférence sur les malades affaiblis, sur les femmes en couches, sur les amputés des champs de bataille et des hôpitaux, sur les personnes qui ont subi une opération chirurgicale quelconque, même quelquefois insignifiante. Après quelques heures de calme et de rétablissement relatif, l'opéré éprouve un frisson plus ou moins violent suivi d'ordinaire de plusieurs autres, et quelques jours, souvent quelques heures, suffisent à l'emporter au milieu des symptômes septiques les plus prononcés, sans que la science ait encore réussi à arrêter ou même à retarder sûrement la marche de cette maladie foudroyante.

Cette maladie éclate aussi quelquefois chez les animaux. Elle peut leur être transmise par inoculation du sang d'un autre animal mort septique. Mais elle apparaît fréquemment, par exemple chez le lapin, d'une façon en apparence spontanée, c'est-à-dire sans qu'il soit nécessaire que les matières inoculées proviennent d'un animal mort de septicémie. On pourrait donc y voir le résultat d'une cause banale; néanmoins sa reproduction est plus certaine quand le virus est emprunté à une véritable septicémie. Sa marche est rapide et sûre : vingt-quatre ou trente-six heures suffisent quelquefois à amener la mort de l'animal inoculé.

En ouvrant le corps d'un animal mort septique, on y constate en général de grands désordres. Tous les muscles, surtout ceux de l'abdomen et des membres, sont le siège de l'inflammation la plus vive. La rate est normale, mais diffluente, le foie et le poumon sont décolorés. Ce qui frappe surtout, c'est l'état emphysémateux du tissu conjonctif. On trouve même çà et là, mais de préférence aux aisselles et aux aines, de véritables poches gazeuses. Le ballonnement du corps est déjà très prononcé dans les derniers moments de la vie. Bref, on dirait une putréfaction sur le vivant.

Vibrion septique. — En examinant au microscope une goutte du liquide musculaire ou de la sérosité qui remplit l'abdomen, on y trouve en foule, comme le montre la fig. 109, des vibrions mobiles, quelquefois très

allongés, rappelant ceux que nous avons étudiés comme ferments des matières albuminoïdes, et pouvant présenter, comme eux, ces formes que nous connaissons déjà, en olives ou en battants de cloche avec une spore à l'une des

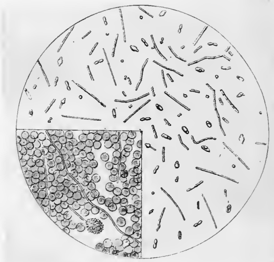


Fig. 109. — *Vibrion septique en articles courts dans la sérosité des tissus et en fils allongés dans le sang.*

extrémités. Les mouvements actifs de ces vibrions, leur abondance, ne leur permettent guère de passer inaperçus, et on a le droit de s'étonner qu'ils aient échappé à tous les savants qui se sont occupés des maladies septiques avant M. Pasteur. C'est qu'on cherchait uniquement dans le sang, par analogie avec les maladies charbonneuses. Or, non seulement c'est dans le sang que le vibrion passe en dernier lieu, mais il y est toujours rare, il y prend une longueur démesurée, et sa réfringence très voisine de celle du sérum le rend difficile à apercevoir. On finit pourtant par le découvrir, rampant, flexueux, se glissant au milieu des globules du sang comme un serpent au milieu des feuilles mortes. On a essayé de rendre, dans une partie de la figure 109, l'aspect de ce phénomène, en multipliant beaucoup dans la portion de sang représentée le nombre des parasites, de façon à figurer les diverses formes sous lesquelles ils se présentent au microscope. Mais on rencontre de très nombreux champs où il n'y a aucun vibrion visible, et quand on en trouve un, il reste très difficile à apercevoir et à suivre dans ses mouvements.

Pourtant ce sang, si pauvre en parasites, se montre septique, comme tous les autres liquides de l'économie, à la condition d'être recueilli quelque temps après la mort. Sa virulence résiste à l'action de l'eau bouillante, de l'alcool, de l'oxygène comprimé. Bien mieux, elle semble s'exalter par plusieurs passages successifs dans l'organisme. MM. Coze et Feltz ont montré qu'en inoculant un sang septique à un premier animal, puis le sang de celui-ci à un second, et ainsi desuite, on finissait par avoir un sang tellement actif qu'il n'en fallait qu'une minime fraction de goutte pour amener la mort d'un lapin en moins de vingt-quatre

heures. M. Davaine avait retrouvé les mêmes faits dans ses expériences sur la virulence possible des matières putrides, et nulle part le sang de l'animal mort ne montrait de productions organisées. On avait donc été peu à peu conduit à l'idée d'une virulence sans organismes s'exerçant par l'intermédiaire d'un poison soluble, de cette sepsine que nous avons étudiée à la page 769 et qui, empruntée à un liquide putride, paraissait pouvoir donner la raison de cette putréfaction sur le vivant qu'on nommait septicémie.

Les expériences de Coze et Feltz, celles de M. Davaine s'interprétaient mal, pourtant, dans cette hypothèse. D'un autre côté, comme nous l'avons dit, la sepsine de Bergmann et Schmiedeberg ne se retrouvait pas toujours. Si bien qu'on avait fini par ne plus croire à son intervention dans la septicémie, ni même à son existence.

MM. Pasteur, Joubert et Chamberland ont levé tous les doutes qui auraient pu persister au sujet du rôle de ce poison organique, en montrant que le vibrion septique que nous venons de décrire était seul actif dans tous ces phénomènes. La méthode qui leur a servi consiste à faire des cultures successives du microbe, en les multipliant assez pour éliminer sûrement tous les matériaux solides et liquides de la goutte de sérosité employée comme semence dans la première culture. De l'une à l'autre le microbe se développe seul, les matériaux morts restent inertes, et après douze cultures, faites chacune sur dix centimètres cubes seulement et ensemencées avec une seule goutte de la précédente, la goutte originelle est diluée autant que si elle l'avait été dans un volume de liquide égal au volume de la terre. La dernière culture ne contient que des filaments du vibrion septique flottant dans un liquide limpide. Or l'inoculation d'une goutte de ce liquide amène la septicémie, l'inoculation d'une goutte du même liquide filtré sur le filtre de porcelaine de la fig. 33 ne provoque aucun désordre. C'est donc le vibrion qui est actif et non un poison, sepsine ou autre, en dissolution dans le liquide inoculé.

Caractère anaérobie du vibrion septique. — Voilà pour l'essence de la démonstration. Elle est la même que pour les autres maladies virulentes, mais il y a ici quelques particularités sur lesquelles nous devons insister. La première dont nous parlerons est que l'on ne peut faire la culture du vibrion septique au contact de l'air, il faut opérer en présence de l'acide carbonique. Le vibrion est en effet un anaérobie, n'ayant besoin d'oxygène à aucun moment de son existence, même lorsqu'il se transforme en germes. Étant anaérobie, il est ferment. Sa vie s'accompagne constamment de la production d'acide carbonique et d'hydrogène qui se trouve mélangé naturellement d'une petite quantité de gaz putrides. On voit que nous avons eu raison d'appeler la septicémie une putréfaction sur le vivant, et que la découverte de la cause de la maladie nous donne, en même temps, l'explication de l'un de ses principaux symptômes.

Ces résultats ont un corollaire nécessaire. Si le vibrion septique est anaérobie, on doit pouvoir le tuer en exposant au contact de l'air pur le liquide qui en renferme. C'est ce qui arrive. Le liquide le plus virulent devient absolument inoffensif, lorsqu'il a été exposé à l'air pendant une demi-journée, en très faible

épaisseur, dans un tube qu'on tient couché horizontalement, et les vibrions qu'il renfermait meurent et se résolvent en une infinité de granulations amorphes. Ce sont là les phénomènes d'atténuation par l'action de l'air que nous avons déjà constatés sur la bactéridie. Mais ils s'accomplissent ici avec une rapidité plus grande, grâce à la sensibilité du vibrion septique vis-à-vis de l'air, et revêtent une forme qui les rend particulièrement curieux. On dirait que l'air brûle les vibrions. « S'il est terrifiant de penser, dit M. Pasteur, que la vie puisse être à la merci de la multiplication de ces infiniment petits, il est consolant aussi de penser que la science ne restera pas toujours impuissante devant de tels ennemis, lorsqu'on la voit, prenant à peine possession de leur étude, nous apprendre par exemple que le simple contact de l'air suffit parfois pour les détruire. »

Conservation des germes septiques. — Dans les sciences, une obscurité disparue en laisse toujours découvrir une autre. Le voile qu'on a soulevé en avant de soi retombe même souvent en arrière. Il semble que ce soit ici le cas, et que ce que nous venons de démontrer apporte le trouble dans ce que nous savons déjà.

Comment la septicémie peut-elle exister, si l'air détruit les vibrions, puisqu'il est partout présent? Comment le sang, conservé au contact de l'air, peut-il rester ou devenir septique? C'est que ce que nous avons dit est vrai pour les vibrions en voie de développement, mais ne l'est plus pour les spores. Celles-ci ne se forment qu'à l'abri du contact de l'air. Il ne s'en est pas produit dans le liquide en très faible épaisseur sur lequel nous avons opéré tout à l'heure. Mais si l'épaisseur du liquide est plus grande ou le volume d'air plus faible, ou même si, en conservant le même rapport entre les volumes de liquide et d'air, nous relevons le tube que nous maintenions couché tout à l'heure, de façon que le liquide étalé sur les parois se réunisse maintenant au fond, le phénomène change. Les vibrions de la surface meurent en absorbant l'oxygène, et protègent ceux de la profondeur, qui ont le temps de se résoudre en germes Ceux-ci, une fois formés, ne craignent plus l'air, et le liquide, devenu inoffensif tout à l'heure, reste ici virulent, parce qu'au lieu d'être exposé à l'air sous une épaisseur de quelques millimètres, il avait, par exemple, un centimètre ou deux de hauteur.

Nous allons tout de suite tirer de cette fine analyse des phénomènes une conclusion inattendue. Voici deux liquides, primitivement identiques, exposés à l'air pendant le même temps. L'un est resté virulent, l'autre ne l'est plus. Ils renfermaient à l'origine et renferment encore tous deux des éléments solides et d'autres en solution. A quelle espèce d'éléments appartient la virulence? Il est évident *à priori* que les éléments liquides sont restés les mêmes dans ces deux cas. On ne peut imaginer une action de l'air sur l'un d'eux qui ne soit produite sur l'autre. Seuls les éléments solides, c'est-à-dire les vibrions, ont changé, et sont devenus des germes vivants dans un cas, des granulations dans l'autre. C'est donc à ces éléments seuls qu'il faut rapporter la virulence. Sans doute ils peuvent peut-être sécréter dans l'organisme une diastase active qui ajoute à la maladie ou en modifie les symptômes, comme nous l'avons vu à propos

du choléra des poules, mais il n'y a pas de sepsine agissant sans microbes. Lorsqu'on a cru en trouver en précipitant par l'alcool, en évaporant à consistance d'extrait un liquide septique, on obtenait bien en effet des substances capables d'amener une mort rapide chez l'animal inoculé, mais leur effet était dû aux spores qui avaient résisté au traitement, et non aux éléments solubles qu'on croyait avoir isolés. Ces moyens violents de traitement détruisent en effet tout ce qui est adulte et en voie de développement, mais respectent la vie latente des germes.

Rôle de l'air. — Que faut-il maintenant à ceux-ci pour proliférer à leur tour. Un terrain favorable d'abord, cela va sans dire, puis des conditions de milieu gazeux pour lesquelles nous allons retrouver, mais en sens inverse, des phénomènes analogues à ceux de tout à l'heure. Si elle est largement exposée à l'air, la spore ne germe pas. Elle ne meurt pas pourtant, et même elle consomme peu à peu l'oxygène; si donc celui-ci n'est pas en trop grand excès par rapport au nombre des germes, il se forme bientôt une atmosphère assez appauvrie de ce gaz pour que le développement commence. Et c'est ainsi qu'à la rigueur, le vibrion septique anaérobie peut se propager, même en présence de faibles quantités d'air, bien que cette propagation soit irréalisable si l'air afflue.

« Une observation thérapeutique curieuse se présente à nous comme conséquence de ces faits, dit M. Pasteur. Qu'on suppose une plaie exposée au contact de l'air et dans des conditions d'état putride pouvant amener chez l'opéré des accidents septicémiques simples, je veux dire sans autre complication que celle qui résulterait du développement du vibrion septique. Eh bien, théoriquement du moins, le meilleur moyen auquel on peut recourir pour empêcher la mort, consisterait à laver sans cesse la plaie avec une eau commune aérée, ou à faire affluer à sa surface l'air atmosphérique. Les vibrions septiques adultes, en voie de scissiparité, périraient au contact de l'air. Quant à leurs germes, ils seraient tous stériles. Bien plus, on pourrait faire arriver à la surface de la plaie l'air le plus chargé de germes de vibrions septiques, laver la plaie avec une eau tenant en suspension des milliards de ces germes, sans provoquer pour autant la moindre septicémie chez l'opéré. Mais que dans de telles conditions un seul caillot sanguin, un seul fragment de chair morte se loge dans un coin de la plaie, à l'abri de l'oxygène de l'air, qu'il y demeure entouré de gaz acide carbonique, ne fût-ce que sur une très faible étendue, et aussitôt les germes septiques donneront lieu, en moins de vingt-quatre heures, à une infinité de vibrions se régénérant par scission, capables d'engendrer une septicémie mortelle à bref délai. »

Arrêtons-nous un instant pour faire remarquer à quoi peuvent se réduire dans le cas que nous venons d'étudier, ces phénomènes de réceptivité individuelle que nous avons visés plus haut. Voici, dans un même hôpital, dans deux lits voisins et pareils, deux opérés ayant subi la même amputation, affaiblis au même degré par l'opération, la perte de sang et les conséquences de la blessure. Chez l'un le rétablissement se fait rapidement; l'autre est saisi, deux, trois, huit, dix, quinze jours après l'amputation, du frisson précurseur de la septicémie et meurt après un temps variable, quelquefois très court. Dira-t-on que

sa réceptivité était plus grande que celle du malade qui se sauve? On ne l'a pas souvent osé pour cette maladie, car elle frappe en apparence très aveuglement; fréquemment c'est le malade le plus valide qu'elle emporte, le malade affaibli et chétif qu'elle respecte; mais quel que soit le terme employé pour expliquer ce choix de la mort, on voit que pour être exact, il devra quelquefois ne traduire qu'une chose : c'est que la plaie était suffisamment aérée dans un cas et pas assez dans l'autre. Nous n'avons pas en effet la ressource de dire que le germe ou parasite manquait dans le premier, était présent dans le second, car nous allons voir que ce germe est présent partout, et que toute plaie externe ou interne est exposée à être envahie par lui.

Ubiquité du vibrion septique. — La première preuve probante de l'existence banale des germes de septicémie a été apportée par M. Signol qui, en 1875, a annoncé qu'il suffisait de tuer, ou mieux d'asphyxier un cheval sain pour que, dans l'intervalle de seize heures au moins, pas avant, le sang de cet animal devînt virulent dans les veines profondes et non dans les veines superficielles. M. Signol avait cru, il est vrai, que c'était la virulence charbonneuse qu il obtenait ainsi ; M. Pasteur a fait voir que c'était la virulence septique.

Il y a donc quelque part dans le corps, pendant la vie, le germe du vibrion septique. Son analogie, que nous avons signalée plus haut, avec les ferments de la putréfaction, son caractère anaérobie, tout fait présumer que c'est d'ordinaire le canal intestinal qui le recèle, et que c'est de là qu'il passe dans la sérosité, dans les humeurs, dans le sang des parties profondes, lorsque, l'animal mort, la putréfaction commence à détruire les tuniques du canal digestif.

M. Pasteur a retrouvé depuis des germes septiques dans toutes les terres végétales recueillies au voisinage des fosses d'animaux morts charbonneux, où il recherchait la bactéridie. L'inoculation aux lapins ou aux cochons d'Inde de la poussière de germes qu'il retire de ces sols détermine aussi souvent la septicémie que le charbon, et, quand on a pris l'échantillon loin des fosses, si le charbon disparaît, la septicémie reste fréquemment présente. Il n'est donc pas douteux que ses germes ne prennent souvent part aux phénomènes de putréfaction, et ne soient par suite largement répandus à la surface de la terre. Cela ne laisse pas d'être inquiétant, quand on songe que la septicémie est encore plus rapide et plus sûre que le charbon dans ses effets meurtriers.

Si cette perspective paraissait inquiétante à quelques personnes, c'est qu'elles auraient oublié les milliers de victimes que les affections septiques enlèvent tous les ans, surtout dans les hôpitaux et les maternités. Il n'y a pas grand chose de nouveau à craindre d'un être qui, jusqu'ici, a fait si largement son œuvre sans être inquiété, et il y a bien plutôt lieu de se demander à son sujet pourquoi il ne profite pas plus souvent des portes que notre ignorance d'autrefois et notre insouciance d'aujourd'hui lui laissent si largement ouvertes.

Forces naturelles diminuant ou supprimant la virulence. — C'est que ces mêmes lois naturelles, qui nous suscitent de pareils ennemis, travaillent quelquefois pour nous. Le moindre effort de notre part les aiderait dans cette deuxième partie de leur œuvre; mais, à elles seules, elles font déjà

beaucoup. Nous les avons vues, à propos du charbon, intervenir pour diminuer la virulence des microbes. Nous venons de les voir supprimer complètement en quelques heures celle des liquides septiques. Nul doute qu'ici encore, la virulence ne décroisse par degrés successifs, et que tous ses divers stades, qui se précipitent quand nous opérons dans nos matras d'expériences, ne se séparent mieux dans les phénomènes naturels. Il n'y a donc pas dans la nature que le vibrion mortel à ceux qu'il envahit, il y a des virus atténués, qui bornent leur action à des phlegmons, à des abcès suppuratifs et autres complications que tous les auteurs qui ont écrit sur la septicité du sang ont tant de fois remarquées.

Cette influence, tantôt maligne, tantôt bienfaisante des forces naturelles, se manifeste dans un autre fait, que nous rencontrons pour la première fois avec autant de netteté : c'est l'influence du milieu nutritif sur la virulence. Le vibrion septique se cultive par exemple très bien dans du bouillon Liebig, neutralisé ou rendu alcalin, et stérilisé par l'action d'une température de 115°. Les générations du microbe s'y succèdent sans fin, mais sa virulence ne reste pas toujours la même. Le vibrion s'y reproduit quelquefois sans manifester le moindre mouvement. M. Pasteur ne dit pas dans quelles conditions. Peut-être ce phénomène se produit-il ici, comme pour les ferments des matières albuminoïdes, lorsque la proportion d'oxygène dans l'air est voisine de celle que le microbe ne peut plus supporter. Quoi qu'il en soit, la virulence alors est très diminuée, sans pourtant être tout à fait absente.

Si on veut revenir à la virulence du début, il faut changer le liquide. Qu'on substitue par exemple au bouillon Liebig du sérum sanguin un peu chargé de coagulums fibrineux, la nouvelle culture fournira un vibrion très septique, tuant par exemple à $\frac{1}{2000}$ de goutte, c'est-à-dire qu'on obtiendra sûrement la mort d'un lapin en mettant dans deux litres d'eau un centimètre cube du liquide de culture, et en inoculant une goutte du mélange. De plus, le sang et la sérosité de l'animal mort acquerront sur-le-champ une virulence plus grande encore, en présentant les formes et les mouvements habituels du vibrion septique.

Ceci nous permet maintenant d'expliquer les faits si étranges au premier abord, découverts par MM. Coze et Feltz, et où l'on voit un virus initial devenir d'autant plus actif qu'il a subi des passages plus multipliés dans l'organisme. Il est évident que nous avons ici des phénomènes tout pareils à ceux que nous observions tout à l'heure dans nos cultures artificielles, et que nous développons ainsi la virulence par l'implantation dans un milieu plus favorable. Mais ce serait réduire la signification de ces expériences que de les regarder seulement à cette lumière ; il est clair aussi que nous développons chez le vibrion une sorte d'accoutumance à habiter un milieu vivant.

Action de la résistance vitale. — Une expérience saisissante permet de mettre à la fois en évidence, et la fécondité de l'organisme de culture, et la résistance que la vie oppose d'ordinaire à son envahissement. Qu'on inocule profondément dans la cuisse d'un mouton une goutte de culture de vibrion septique, on pourra, si le microbe n'est pas très infectieux, n'avoir qu'un

phlegmon plus ou moins grave. Lorsque la mort viendra, elle pourra s'être fait attendre quelques jours. Prenons maintenant un gigot, flambons-le sur tous les points de sa surface extérieure et dans tous les petits recoins où des germes ont pu se loger, de façon à détruire tout ce qu'il porte de vivant; déposons alors, dans sa profondeur comme tout à l'heure, une semence de vibrion septique. Puis mettons le tout à l'étuve sous une cloche, à la température du corps humain. Dans ce morceau de viande où ne circule plus la vie, il n'y aura pas, au bout de vingt-quatre heures, de parcelle microscopique qui ne renferme par myriades des vibrions et de leurs germes. La chair dans ces conditions est toute gangrenée, verte à sa surface, gonflée de gaz, et elle s'écrase facilement en donnant une bouillie sanieuse dégoûtante. Il est évident que le vibrion sécrète une diastase dissolvante de la fibrine, qui la liquéfie comme nous l'avons vu dans les phénomènes de putréfaction.

« Quelle saisissante démonstration, s'écrie M. Pasteur, de la résistance vitale, ou, pour me servir d'une expression tout à la fois et plus vague et plus claire, de l'influence de la vie pour combattre les conséquences si souvent désastreuses des plaies en chirurgie. Cette eau, cette éponge, cette charpie avec lesquelles vous lavez ou vous recouvrez une plaie, y déposent des germes qui, vous le voyez, ont une facilité extrême de propagation dans les tissus, et qui entraîneraient infailliblement la mort des opérés dans un temps très court si la vie, dans les membres, ne s'opposait à la multiplication de ces germes. Mais, hélas, combien de fois cette résistance vitale est impuissante, combien de fois la constitution du blessé, son affaiblissement, son état moral, les mauvaises conditions du pansement n'opposent qu'une barrière insuffisante à l'envahissement des infiniment petits dont vous l'avez recouvert à son insu dans la partie lésée. »

La médecine possède du reste, depuis longtemps, un mot pour indiquer l'effet funeste des influences qui entourent le blessé sur la marche des phénomènes; on les désigne sous le nom d'influences dépressives, et on y compte à la fois des influences morales et des influences extérieures, telles que celles de la température, de la saison, et même de la situation météorologique du moment. Quand on a été en contact avec des blessés ou des malades, on est tout disposé à accepter ces influences. Correspondent-elles à des faits imprévus? Exigent-elles l'introduction d'un élément nouveau dans la question? Nullement. Si restreinte que soit leur action, elle peut au moins affaiblir ou fortifier dans une certaine mesure les cellules de l'organisme, faire circuler le sang plus facilement, amollir les tissus comme nous savons que le font les temps chauds et orageux, les raffermir comme les temps secs et froids. Qu'on admette l'influence la plus faible qu'on voudra, et on est obligé d'en admettre une : cette influence va nous suffire pour expliquer que le vibrion septique puisse être refoulé dans un cas, réduit à être inoffensif, ou qu'il puisse l'emporter dans l'autre. Comme nous l'avons fait remarquer, il s'agit de mettre en présence deux cellules dont les forces s'équilibrent à l'origine, entre lesquelles la cause la plus faible décide tout d'abord, et dont celle qui cède est réduite à céder de plus en plus, car à partir du premier moment chaque minute diminue ses forces et augmente celles de l'ennemi.

Aussi nous avons pu, sans scrupule, laisser revenir à la fin de notre exposé les mots de résistance vitale. Il nous semble qu'ils ont un sens clair désormais.

Un organisme ou un organe où le sang circule, apporte aux cellules les aliments nécessaires, les débarrasse de leurs produits de sécrétion, n'est pas, vis-à-vis des cellules d'un microbe parasite, comme un organe où le sang ne circule plus et où les mutations vitales sont arrêtées ou seulement ralenties. On peut donc continuer à manifester cette différence par le terme de résistance vitale qui, comme nous l'avons fait remarquer en commençant, ne dit rien sur la valeur absolue de la force, mais ne vise que les variations qu'elle subit d'un individu à l'autre. Il n'y a aucun inconvénient à l'employer, si on se rend bien compte de l'ordre de faits qu'il est destiné à résumer.

BIBLIOGRAPHIE

Coze et Feltz. — Expériences sur la septicémie. 1866 et 1872.

Pasteur, Joubert et Chamberland. — La théorie des germes et ses applications à la médecine et à la chirurgie. *Bull. acad. de méd.*, 30 avril 1878.

— *Comptes rendus de l'acad. des sciences*. 1877, 1878 et 1879.

Koch. — Untersuchungen über die Ætiologie des Wundsinfections Krankheiten. *Leipsik*, 1878.

CHAPITRE LXXVI

MALADIE DES CORPUSCULES

Dans l'étude que nous venons de faire de la septicémie, l'idée de contagion a été constamment absente. La septicémie n'est pas une maladie contagieuse au sens propre du mot, en ce sens qu'il ne suffit pas, pour s'en préserver, d'éviter le contact d'un animal septique ou des corps solides ou liquides qui ont été en rapport avec lui. Au contraire de ce qui a lieu pour les germes du charbon, les germes septiques ont un autre terrain de culture que les animaux qui souffrent de la maladie qu'ils produisent, et c'est même ce caractère banal du germe septique qui donne à l'étiologie de la septicémie le cachet spécial qui nous l'a fait choisir comme exemple.

Avec la maladie des corpuscules, nous allons au contraire avoir à soulever les questions importantes de contagion et d'hérédité, et nous verrons avec quelle netteté elles se résolvent, dans ce cas qui peut, au premier abord, paraître très particulier, mais qui va nous permettre de mettre en évidence des formules et des conséquences très générales.

Marche générale de l'éducation des vers à soie — Tout le monde connaît, au moins par ouï-dire, les faits si singuliers qui se succèdent sous les yeux de l'éducateur de vers à soie. Les œufs de cet insecte, auxquels leur ressemblance avec les semences végétales a fait donner le nom de graines, donnent, après quelques jours d'incubation au printemps, de petits vers minuscules pesant tout au plus un demi-milligramme, qui, à peine nés, se jettent avec avidité sur la feuille tendre de mûrier qu'on leur sert. Peu à peu ils grossissent, se montrent de plus en plus alertes. Puis, au bout de cinq ou six jours, ils paraissent s'endormir et restent immobiles sur la feuille pendant une trentaine d'heures. C'est le moment de la mue. Une nouvelle peau s'est formée au-dessous de la première. Une nouvelle masse cornée avec ses mandibules, ses trous oculaires, etc., est venue remplacer, avec des dimensions plus grandes, la tête que le ver avait en naissant et qui tombe d'une pièce. Par l'ouverture qu'elle laisse, le ver sort avec effort, dégageant d'abord ses pattes de devant, puis les fausses pattes qu'il porte à son arrière d'une sorte d'étui formé par l'ancienne peau. Quand il s'est complètement dégagé, après quelques

instants de repos, il se remet en quête de nourriture, et commence un second âge, d'où, par une nouvelle mue, il passe à un troisième, et ainsi de suite, jusqu'à ce qu'il arrive au cinquième.

Quand celui-ci prend fin, le ver est âgé, suivant les races, de trente à quarante jours. Il pèse plusieurs grammes, c'est-à-dire plusieurs milliers de fois ce qu'il pesait à sa naissance; il a consommé une grande quantité de feuilles de mûrier, et pourtant, malgré cette croissance rapide, malgré cette rénovation puissante et continue des tissus, tous les vers d'une éducation bien conduite sont tellement égaux qu'en en prenant deux au hasard, il est presque impossible de les distinguer l'un de l'autre. Il n'en serait pas ainsi dans la nature. Les hasards dans l'éclosion, dans la nourriture, dans la température pendant les époques d'activité ou pendant les mues, auraient introduit des inégalités notables. Un certain nombre d'individus, beaucoup plus grands que dans les éducations industrielles, n'auraient pu réussir à parcourir toutes les phases de l'existence. Ceux qui auraient survécu auraient peut-être plus de résistance vis-à-vis des agents extérieurs, et s'il s'agissait d'hommes, le résultat, au point de vue social, serait peut-être meilleur. Mais à une société qui s'est proposé de faire vivre le plus grand nombre possible de ses membres, on ne peut souhaiter de meilleur succès que celui que réalise l'industrie dans ses éducations de vers à soie. De beaux vers, bien égaux, marchant du même pas dans leur croissance rapide, n'éveillent à aucun degré l'idée d'une souffrance quelconque. Cette vie de communauté, de promiscuité même, ne semble pas leur nuire. Elle tue pourtant un grand nombre d'êtres faibles, qu'on rencontre morts ou mourants dans les litières. Mais ceux qui se sauvent paraissent n'en pas souffrir. Toutefois nous verrons bientôt que ces mêmes conditions de culture deviennent funestes, lorsqu'il survient quelque chose d'extérieur, d'étranger à l'organisme de la larve.

Jusqu'ici, en effet, nous en sommes restés aux faits préparatoires de la vie de l'insecte parfait. Le ver, arrivé à sa maturité, abandonne sa litière, et cherche, en montant dans les rameaux qu'on lui présente, un endroit où il tisse son cocon, qui est jaune d'or ou blanc d'argent, dans les variétés les plus communes en France. Quand il est ainsi enfermé dans une enveloppe protectrice, il se contracte, son être tout entier se fond en une masse homogène, la chrysalide, au sein de laquelle, par un travail nouveau, se forment les tissus du papillon. Au bout de trois semaines environ, celui-ci sort du cocon. Il n'a alors plus besoin de nourriture, et n'a plus qu'une fonction à accomplir, celle de reproduction, après laquelle il meurt. La graine pondue par la femelle nous ramène à notre point de départ.

Éducations corpusculeuses. — Tels sont les phénomènes successifs d'une éducation régulière. Mais les choses ne se passent pas toujours ainsi, et il n'y a pas encore bien longtemps que la sériciculture se trouvait, de ce fait, dans un état de souffrance véritable. Presque toutes ses éducations échouaient. Les vers, au lieu de grossir également et régulièrement, de subir à peu près en même temps leurs mues, et d'arriver ensemble au moment de la montée et de l'encoconnement, s'inégalisaient peu à peu, cessaient de man-

ger, montraient des retards aux mues, et laissaient à chacune de ces périodes critiques de leur vie une foule de victimes. Au lieu de foisonner sur la litière, comme si leur nombre augmentait tous les jours, ils s'éclaircissaient, se fondaient presque à vue d'œil. Les plus vigoureux réussissaient quelquefois à filer leur cocon, mais trop souvent la récolte devenait nulle, laissant l'éducateur d'autant plus découragé qu'il sentait mieux n'avoir à se reprocher ni négligence ni manque de soins. Et non seulement l'expérience acquise et les précautions les plus minutieuses se montraient impuissantes à éviter ces échecs, mais on était chaque jour témoin de faits qui déconcertaient la raison, et rendaient inutiles les tentatives les mieux combinées en apparence pour sortir de ce désastreux état de choses.

Une éducation avait-elle, par exemple, très bien réussi, le bruit s'en répandait dans le pays, tant le fait était devenu rare. Tout le monde venait la voir et l'admirer, et chacun tâchait de se procurer quelques grammes de la graine qui en provenait, dans l'espoir tout naturel de voir cette graine se montrer excellente. Eh bien ! il arrivait que presque toujours cet espoir était déçu, et que les vers sortis de cette graine ne ressemblaient nullement à leurs ascendants. Beaucoup périssaient dans les premiers âges, et ceux qui avaient traversé heureusement la quatrième mue ne semblaient guère pouvoir aller au delà ; ils se rapetissaient et finissaient par disparaître presque tous, en ne donnant qu'une récolte nulle ou insignifiante. L'impossibilité bientôt constatée par de pareils insuccès de faire de la graine avec nos belles races françaises avait engagé de nombreux commerçants à aller chercher au loin des races plus saines : mais la maladie semblait faire avec eux le tour du monde, et leurs graines exotiques, après avoir réussi une ou deux années en France, étaient frappées de stérilité aussi bien chez nous que dans les pays d'où elles étaient originaires.

Étiologie de la maladie. — Par le fait de sa production dans les éducations qui paraissaient devoir être les plus robustes, la maladie semblait être épidémique; par le fait de sa marche lente, mais régulière, de notre pays vers les régions les plus reculées de l'Europe et de l'Asie, elle semblait présenter au plus haut degré le caractère contagieux : et cependant d'autres faits, non moins nombreux, non moins probants en apparence, venaient témoigner qu'elle n'était ni épidémique, ni contagieuse.

Pour n'en citer qu'un exemple, on avait vu, après avoir mélangé par erreur deux graines, l'une à cocons blancs, l'autre à cocons jaunes, la presque totalité des vers à cocons blancs périr, et les cocons jaunes donner une récolte très satisfaisante. Comment ne pas conclure de ce fait, que, de ces deux graines, l'une était malade et l'autre saine, que la graine malade n'avait pas communiqué le mal à la graine saine, et qu'en conséquence la maladie n'était pas contagieuse.

L'incertitude n'était pas moins grande, si on cherchait à étudier la maladie en elle-même, sans se préoccuper de son caractère nosologique. Ainsi M. de Quatrefages, après en avoir fait une étude soigneuse, avait cru pouvoir la caractériser par l'existence, à l'intérieur et surtout sur la peau du ver, de taches très petites, simulant un semis de *poivre noir*, et avait été conduit ainsi à lui donner

le nom de *pébrine*. Mais l'expérience montrait que des vers pouvaient être tachés sans être malades, et inversement que des vers non tachés ne donnaient pas nécessairement de la bonne graine. Voulait-on pénétrer plus avant dans l'étude de la maladie, on se trouvait en présence des résultats contradictoires obtenus par divers physiologistes. Ainsi, MM. Lebert et Frey avaient établi qu'à l'intérieur de tous les vers et de tous les papillons malades existait en abondance un parasite spécial, visible seulement au microscope, et formé [de petites cellules ovales, plus réfringentes que le liquide, et apparaissant dans le champ du microscope comme des globules brillants. On les trouve représentés dans la fig. 110,

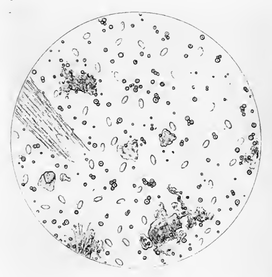


Fig. 110. — *Corpuscules du ver à soie, avec débris de papillons, et cristaux ronds d'urate.*

sur laquelle nous allons revenir tout à l'heure. Ce parasite, qui a conservé le nom impropre de *corpuscule*, avait été observé ponr la première fois par M. Guérin-Menneville, et son importance au point de vue pathologique avait été entrevue par M. Cornalia. Mais à en croire un autre savant, M. Filippi, il existait normalement dans tous les papillons.

Un progrès réel avait pourtant été réalisé le jour où M. Osimo avait découvert les corpuscules dans les œufs de ver à soie, et où M. Vittadini, après avoir reconnu que leur nombre augmentait dans une ponte au fur et à mesure qu'on se rapprochait de l'époque de l'éclosion, avait fondé sur l'examen microscopique de la graine un moyen de distinguer la bonne de la mauvaise. Le corpuscule est bien, en effet, comme nous allons le voir, la cause de la maladie, et une graine qui en renferme ne peut jamais donner de cocons; mais, ces deux faits n'étant pas démontrés, l'incertitude existait sur la valeur théorique du procédé Vittadini. Quant à sa valeur pratique, il donnait trop souvent comme bonnes des graines détestables, et lorsqu'il en condamnait une, c'était au nom de principes trop incertains pour que l'éducateur fût coupable de ne tenir aucun compte des conseils de la science.

En résumé, au moment où M. Pasteur commença ses recherches, on ne savait rien sur la nature et les causes de la maladie régnante, et tous les efforts pour la combattre étaient restés impuissants. Aussi, en désespoir de cause, s'était-on arrêté avec une persistance singulière à ces mots de pays infecté, de milieu délétère, de choléra des vers à soie, expressions vagues, mal définies, qui parlent à l'oreille sans rien dire à l'esprit, et qui, depuis les travaux de M. Pasteur, doivent disparaître pour la maladie des vers à soie, en attendant que des travaux analogues les fassent disparaître pour les maladies humaines.

M. Pasteur commença par s'assurer que le corpuscule n'existe normalement à aucun âge dans le ver à soie, et qu'en élevant convenablement de la graine saine, les vers, les chrysalides, les papillons et leurs œufs sont également exempts de corpuscules. Les vers provenant d'œufs même très légèrement corpusculeux, en renferment au contraire à foison, et c'est quelquefois un spectacle étrange de voir à quel degré ces vers sont atteints sans en périr. On en rencontre dans lesquels aucun tissu n'est respecté, ni les nerfs, ni les muscles, ni les organes digestifs, ni les glandes de la soie : tout est envahi, les éléments histologiques normaux disparaissent masqués ou résorbés en partie par le développement du parasite; la forme générale de l'organe, plus ou moins bien conservée, permet quelquefois seule de le reconnaître. Cependant le ver ne meurt pas. Il ne grossit plus, se ratatine, se plisse et se rapetisse de plus en plus, et lorsque enfin la vie l'abandonne, son corps tout entier est une bouillie de corpuscules; je ne connais pas d'autre exemple aussi effrayant de parasitisme.

Pour en donner une idée, j'ai fait représenter, dans la figure 110, une portion de la bouillie qu'on obtient en broyant dans un mortier avec un peu d'eau, non pas un ver, mais un papillon corpusculeux. On y voit sans peine que le nombre des corpuscules égale, s'il ne le dépasse pas, le nombre des éléments histologiques normaux de l'organisme. Les petites granulations rondes, à contours nets, qu'on voit sur la figure, sont des urates provenant de la poche vésicale du papillon. Il est important de ne pas les confondre avec les corpuscules.

Prenons maintenant un ver sain, et faisons-lui avaler, en les lui servant sur une feuille de mûrier, ou inoculons-lui, par une piqûre, des corpuscules frais empruntés à un ver malade. Aussi sûrement que le virus vaccinal se développe dans un animal approprié, les corpuscules ainsi introduits dans l'organisme vont s'y multiplier jusqu'au point de l'envahir en entier. Si les corpuscules ont été portés dans le canal digestif, ils commencent par se développer dans ses tuniques. Au bout de huit à dix jours, lorsque ces tuniques présentent déjà des corpuscules, et avant qu'on n'en trouve nulle part ailleurs dans le corps, on voit apparaître sur la peau de la larve des taches d'abord très fines, qui grossissent et deviennent bien visibles le dixième ou douzième jour de la contagion. Ces taches, qui peuvent quelquefois simuler un semis de poivre noir, ne reposent jamais tout d'abord sur un tissu corpusculeux; elles constituent chez les vers à soie un exemple de cette corrélation qui, chez des animaux plus élevés en organisation, rattache certaines affections cutanées à des altérations de la muqueuse intestinale.

Il n'est même pas nécessaire d'emprunter à un ver vivant ce que nous appel-

lerions le virus corpusculeux, si nous n'en connaissions pas la nature. On peut prendre pour cela les poussières fraîches de l'éducation courante, si elle est corpusculeuse, ou bien les déjections des vers corpusculeux. Il est dès lors de toute évidence que, si on fait vivre côte à côte des vers sains et des vers malades, les causes de contagion seront présentes à tout instant. Les crottins des vers corpusculeux tomberont sur les feuilles, sur lesquelles le mouvement incessant des vers les étalera par le frottement. Une portion sera ingérée par les vers sains, une autre pénétrera par les piqûres très fines que se font les vers au moyen des crochets acérés dont sont armées leurs pattes antérieures. Voilà plus de causes qu'il n'en faut pour rendre la pébrine contagieuse.

Heureusement, la marche de la maladie n'est pas aussi rapide que sûre, et ce n'est guère qu'une trentaine de jours après la contagion que l'animal est assez envahi par le parasite pour être vraiment malade, et ne plus pouvoir, par exemple, filer son cocon. Comme sa vie à l'état de larve n'est que de trente-cinq jours environ, tout ver qui sort d'une graine saine, c'est-à-dire qui ne contient pas, au moment de sa naissance, des corpuscules en voie de développement, donnera presque sûrement son cocon. Il faudrait, pour qu'il en fût autrement, qu'il se contagionnât dès les premiers jours de son existence, c'est-à-dire à une époque où la maladie est encore latente chez ses voisins même les plus infectés, et où il a le plus de chances de ne pas rencontrer autour de lui des corpuscules formés qu'il pourrait avaler ou s'inoculer par des blessures. Donc, si une graine est saine, c'est-à-dire exempte de corpuscules, l'éducation qui en provient ne peut périr de la pébrine.

Voilà évidemment une conclusion d'une importance capitale, et ce n'est pas la seule de cet ordre. Il résulte, en effet, de cette espèce de durée d'incubation de la maladie une autre conséquence : c'est que, le ver à soie passant de quinze à vingt jours dans son cocon, pour peu qu'il soit malade quand il s'encoconne, et il peut l'être assez peu pour paraître, même au microscope, parfaitement sain, les quelques corpuscules qu'il renferme vont se développer peu à peu chez lui. Ils envahiront tous les tissus de la chrysalide et en particulier celui au milieu duquel se forment les œufs. Dès lors, ceux-ci pourront en renfermer quelques-uns dans leur intérieur. Les vers qui en naîtront, corpusculeux à leur naissance, ne pourront pas, nous l'avons vu, arriver jusqu'au cocon, et leur éducation échouera l'année suivante. On n'obtiendra donc de récolte industrielle d'une graine que si elle est pure, et elle ne le sera sûrement que si elle provient de papillons exempts de corpuscules.

Nous sommes donc autorisés à dire maintenant que la maladie est contagieuse et héréditaire, mais en donnant à ces deux mots de contagion et d'hérédité un sens bien défini, car ils représentent tous les deux l'introduction, soit dans un ver sain par suite de ses voisins malades, soit dans un œuf par le fait de la femelle corpusculeuse, d'un seul et même élément, le corpuscule en voie de développement. M. Pasteur est même allé plus loin, et il a rattaché entre elles ces deux questions de contagion et d'hérédité en montrant qu'au commencement d'une campagne séricicole, il n'y a de corpuscules vivants que ceux qui sont renfermés dans les œufs malades. Tous les autres, tous ceux qui se rencontrent en si grande abondance dans les poussières des magnaneries, tous

ceux qui recouvrent les graines corpusculeuses de l'année précédente, tous ceux, en d'autres termes, qui ont plus de quelques mois ou plus de quelques semaines de date, sont morts et incapables de se reproduire. Ce sont donc les corpuscules héréditaires seuls qui permettent à la maladie de reprendre chaque année son caractère contagieux, et elle disparaîtrait pour jamais le jour où, dans le monde entier, on n'élèverait que de la graine saine.

BIBLIOGRAPHIE

Pasteur. — *Études sur la maladie des vers à soie.* Paris, Gauthier-Villars, 1869.

CHAPITRE LXXV

MALADIE DES MORTS-FLATS

La maladie des corpuscules était, au moment où M. Pasteur en a commencé l'étude, tellement répandue, qu'aucune éducation n'en était pour ainsi dire exempte. Dans quelques-unes, elle amenait un échec complet. C'était comme une épidémie qui aurait détruit la presque totalité des habitants d'une ville. Mais les éducations qui réussissaient étaient rarement indemnes et ne donnaient d'ordinaire qu'une graine vouée à la destruction. C'était une maladie contagieuse et héréditaire arrêtant brusquement, au bout d'une ou de deux générations, la multiplication et la perpétuité de l'espèce. Dans l'ensemble, elle avait réduit, en 1865, à 4 millions de kilogrammes la récolte de cocons, qui avait été en 1854 de 21 millions, et en 1853 de 26 millions de kilogrammes.

Aujourd'hui, grâce à l'emploi des méthodes de grainage proposées par M. Pasteur, cette maladie effrayante, contagieuse, épidémique, héréditaire, n'est pour ainsi dire plus qu'un souvenir. On ne la retrouverait en aucun point avec les caractères qu'elle présentait naguère. Mais il ne faut pas croire qu'elle ait disparu. Elle est toujours présente, toujours prête à se développer, mais toujours contenue par une surveillance constante. Il suffirait de s'endormir quelques années pour la voir renaître et s'étendre. C'est le plus bel exemple qu'on puisse citer de la puissance de l'homme en face des fléaux qui le menacent, lorsque cette puissance a percé le secret des forces naturelles du fléau, et le combat avec ces mêmes forces.

On peut donc dire qu'en ce moment-ci, et grâce aux moyens mis en œuvre contre elle, la maladie des corpuscules a perdu la place qu'elle avait autrefois dans les préoccupations des éducateurs; elle laisse cette place à une maladie plus complexe, dans laquelle les questions d'apparition spontanée, d'hérédité, de contagion, ne se présentent, ni avec la même régularité d'allures, ni avec la même simplicité de causes que dans le cas de la maladie des corpuscules. La courte étude que nous allons en faire nous montrera à quel point elle ressemble aux maladies humaines.

Elle peut d'abord sévir à tous les âges du ver à soie et emporter les vers même avant leur première mue. Mais, au fur et à mesure que l'éducation

s'avance, les ravages de la maladie deviennent plus sensibles et plus apparents, et elle devient surtout effrayante lorsqu'elle tombe sur un lot de vers après la quatrième mue, au moment où commence, chez l'insecte, cette période de voracité que l'on appelle la *grande frèze*. L'éducation a, par exemple, bien marché jusque-là : s'il y a eu des symptômes précurseurs, tels que quelques vers trouvés morts au réveil de chaque mue, ils ont échappé à l'attention, et le succès semble assuré, lorsque tout à coup les vers, saisis d'une torpeur inexplicable, cessent de manger, semblent au contraire fuir la feuille, se promènent languissants ou se dressent immobiles au bord des litières, et périssent presque tous en conservant à tel point les apparences de la vie, qu'il faut les toucher pour s'assurer qu'ils sont morts. Si déjà quelques-uns sont montés sur la bruyère qu'on leur offre pour filer leur coton, ils s'allongent sur les brindilles et y restent sans mouvement jusqu'à leur mort, ou bien ils tombent, et on les trouve pendants et retenus seulement par leurs fausses pattes. Dans ces positions, ils deviennent mous au bout d'un temps plus ou moins long, qui est quelquefois très court, puis ils pourrissent en prenant une couleur noire dans l'intervalle de vingt-quatre ou quarante-huit heures. Ils répandent alors une odeur aigre, désagréable, rappelant celle des acides gras volatils, et il suffit de quelques jours, souvent de quelques heures, pour transformer ainsi en un charnier infect la plus belle chambrée. On comprend qu'à ce degré d'intensité le fléau ait paru plus redoutable que la pébrine, et que la science se soit préoccupée d'en connaître la cause et de chercher les moyens de le prévenir.

Or, en étudiant le contenu du canal digestif des vers morts-flats, M. Pasteur trouva la feuille qui remplissait ce canal envahie par les mêmes organismes microscopiques que ceux qui s'y développent lorsque après l'avoir broyée avec de l'eau, on la met à fermenter dans un vase de verre. Il y a, comme le montre la figure 111, des vibrions très mobiles, que nous pouvons assimiler aux

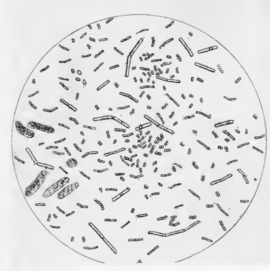


Fig. 111. — *Ferments de la flacherie.*

vibrions butyriques ou à ceux de la putréfaction, dont quelques-uns présentent le corpuscule brillant que nous savons être une spore. Il y a aussi un micrococcus en chapelets de grains extrêmement petits, ordinairement par groupes de deux, ferment qui est quelquefois seul présent et se montre en tous cas extraordinairement multiplié. Enfin, on y trouve encore des vibrions, moins gros et moins longs que ceux de la putréfaction, ou même des bactéries. Comme ces organismes ne se rencontrent jamais dans un ver bien portant qui digère bien, il est évident que les morts-flats digèrent mal, et on devine quel doit être l'effet d'un pareil accident chez des êtres qui paraissent vivre uniquement pour manger, et qui consomment, en effet, des quantités prodigieuses de nourriture.

Étiologie. — Maintenant, ces productions organisées qui se forment dans l'intestin des vers malades sont-elles la cause ou le résultat de la maladie? La précèdent-elles, ou ne prennent-elles naissance que par suite de la répercussion sur les fonctions digestives d'un affaiblissement général du ver? En essayant de répondre à cette question, nous allons rencontrer la différence profonde qui sépare la pébrine de la flacherie, qui sépare aussi la fièvre charbonneuse de la fièvre typhoïde, ou même de la phtisie pulmonaire. La pébrine est produite par un parasite spécial, parasite de la graine et du ver, et qu'on n'a pas rencontré jusqu'ici dans la nature en dehors d'eux. Dans l'œuf, ce parasite vient du papillon ; dans le ver, il peut venir de l'œuf ou de la contagion, mais on peut l'éliminer sûrement de l'œuf en prenant un papillon qui n'en renferme pas, du ver en le prenant sorti d'une graine saine et en le préservant du contact de voisins malades. De même, dans le charbon, la bactéridie peut s'introduire dans le fœtus par la mère ou dans l'adulte par voie de contagion. La seule différence avec la pébrine est que la maladie étant plus rapide et plus meurtrière, elle ne passe pas dans l'adulte par voie d'hérédité. Mais, dans les deux cas, le parasite provient toujours d'un malade préexistant; il n'est pas présent à l'état de germe banal dans le milieu où vivent les espèces qu'il envahit.

Pour la flacherie, il en est autrement. Toute feuille de mûrier triturée et abandonnée à elle-même à l'étuve laisse se développer les germes dont sa surface est couverte, se peuple d'êtres très identiques, en apparence et en réalité, comme nous allons le voir, à ceux que nous rencontrons dans le canal intestinal des vers flats. Tout ver qui se nourrit de feuille de mûrier ingère, par conséquent, d'une façon continue, la cause prochaine d'une fermentation de cette feuille dans son canal intestinal. Si, dans leur état physiologique, les vers n'étaient pas plus résistants vis-à-vis de ces ferments qu'il ne le sont vis-à-vis du corpuscule, il n'y aurait pas d'éducation possible, tous les vers mourraient morts-flats. De même, si dans son état normal l'organisme de l'homme ne résistait pas à la colonisation des vibrions septiques que renferme presque toujours le canal intestinal, la vie de l'espèce serait arrêtée au bout d'un très petit nombre de générations. Heureusement, toutes les espèces vivantes sont organisées ou se sont organisées, suivant l'idée qu'on se fait des causes de leur situation actuelle, pour résister aux causes banales de destruction qu'elles ren-

contrent autour d'elles, et, pour la maladie des morts-flats en particulier, la lutte est non seulement toujours possible, mais facile.

Physiologiquement, les choses sont telles qu'elle se décide toujours en faveur du ver, dont les liquides digestifs empêchent le développement des ferments, et même les digèrent. Mais nous pouvons essayer de changer les conditions de la lutte, soit en renforçant le nombre des ferments ingérés, soit en les faisant intervenir lorsqu'ils sont en plein développement, et en leur évitant par suite les difficultés que rencontre, comme nous le savons, la première évolution du germe, soit en modifiant les voies d'ensemencement. Voyons comment répond l'expérience à ces diverses tentatives.

Contagion directe. — Cherchons d'abord ce que donne l'introduction directe dans le ver sain des germes empruntés à un ver malade. Si, prenant des vers sains, on leur fait avaler un peu de la matière intestinale ou des déjections d'un ver malade, et, si on les voit à la suite de ce repas périr morts-flats, en présentant à leur tour, dans leur intestin, les mêmes organismes microscopiques que ceux qu'ils ont ingérés, il sera bien évident que c'est l'ingestion de ces ferments et leur développement ultérieur qui auront causé la mort. La maladie est donc contagieuse, et, pour empêcher les vers malades de la communiquer aux vers sains, en salissant, par exemple, par leurs déjections humides, les feuilles que ceux-ci vont manger, il faut, comme pour la pébrine, tenir ses vers aussi espacés que possible ; il faut faire de ces éducations à grande surface, si vivement recommandées par M. Pasteur, dont les résultats sont mis en évidence, dans scn livre *Sur les maladies des vers à soie*, par les expériences les plus ingénieuses et les plus nouvelles, et qui sont pour les vers ce qu'est, pour l'espèce humaine, la vie à la campagne comparée à la vie des villes.

Toutefois, il ne faut pas croire que la contagion des divers éléments signalés plus haut soit également redoutable. Le ferment en chapelets de grains peut se développer dans un ver sans entraîner sa mort, et nous verrons tout à l'heure l'importanee de ce fait. Mais les vibrions sont beaucoup plus actifs, et il est curieux d'étudier la marche qui suit l'invasion de ces êtres, lorsqu'on les a introduits artificiellement dans un organisme sain. On peut pour cela les emprunter à diverses provenances : aux vers morts flats, par exemple, ou bien aux fermentations artificielles de feuille. On peut aussi prendre les poussières de magnanerie, dans lesquelles existent en abondance des spores de vibrions. Enfin, on peut aussi s'adresser aux chrysalides mortes dans leurs cocons, et qui renferment soit des vibrions devenus immobiles, soit seulement des spores qui conservent longtemps la propriété d'en reproduire de nouveaux. Nous verrons tout à l'heure que toutes ces provenances ne s'équivalent pas ; laissons pour le moment cette question de côté. Cherchons seulement les effets généraux de l'introduction de ces vibrions dans l'organisme.

Cette introduction peut se faire à l'aide de différents procédés, soit par piqûre, soit en enduisant de substance contagionnante les feuilles qui servent à la nourriture des vers, soit même, quand on veut infecter des vers à leur naissance, en enduisant de vibrions la coque de l'œuf, dont le jeune ver absorbe toujours une portion au moment d'en sortir. On peut enfin mettre en jeu les

questions d'infection mutuelle en mélangeant de bons et de mauvais vers, ou bien des questions d'influence héréditaire en accouplant des papillons femelles avec des mâles, dont le fourreau de l'organe mâle a été trempé dans un liquide riche en vibrions.

« En général, disent MM. Pasteur et Raulin, à qui sont dues ces expériences curieuses, les vers contagionnés par ces divers moyens s'inégalisent peu à peu, se mettent en retard sur les vers du lot témoin, prennent des allures plus lentes, et finissent par mourir avec les caractères extérieurs de la flacherie. En même temps, des vibrions de diverse nature apparaissent dans leur organisme. Si les vers ont été contagionnés par nutrition, les vibrions se montrent d'abord dans l'intestin ; ce n'est qu'au moment de la mort, ou même après, qu'ils passent dans le sang ; c'est alors que le ver noircit. S'ils ont été contagionnés par piqûre, les vibrions inondent d'abord le sang, puis très rapidement l'intestin. Ces caractères se reproduisent également dans la flacherie naturelle.

« Les papillons contagionnés par piqûre se remplissent de vibrions et ne tardent pas à mourir; les femelles contagionnées par accouplement meurent aussi, en offrant d'abord des vibrions dans la poche copulatrice, puis dans tout l'organisme. Ces caractères se produisent aussi naturellement dans les grainages ordinaires, chez certains papillons qui meurent prématurément : les uns ont des vibrions dans tous leurs organes, les autres en ont seulement dans la poche copulatrice, suivant une observation très exacte de M. Chiozza. »

La marche de la contagion par vibrions ne présente pourtant pas la même régularité, la même simplicité que la contagion par corpuscules : 1° le temps qui sépare le moment de la contagion du moment de la mort du ver à soie peut varier de douze heures à trois semaines; le ver peut même échapper complètement à l'influence du vibrion ; 2° la relation entre l'époque d'apparition du vibrion et l'époque de la mort du ver ne suit pas les mêmes lois que celles qui sont propres au corpuscule de la pébrine. Ce résultat ne saurait nous étonner. Nous aurions pu le prévoir. Comme nous l'avons fait remarquer plus haut, le terrain d'implantation du microbe est mauvais, puisque ce microbe, toujours présent, ne se développe que rarement. Physiologiquement, l'organisme du ver est fait pour lui résister, surtout lorsqu'il s'introduit par les voies digestives, et il n'y a pas à s'étonner que la lutte soit plus ou moins longue, et se termine quelquefois par la disparition du parasite. Il n'y a là en jeu que des actions analogues à celles que nous connaissons. Mais le même ordre de considérations nous permet de prévoir que la voie d'introduction des ferments jouera un grand rôle dans les résultats de la lutte.

Influence du mode de contagion. — Nous pouvons nous attendre, en vertu de ce qui précède, à voir que la résistance est surtout organisée du côté du canal digestif. En effet, tandis que les vers infectés par nutrition à l'aide de vibrions de vers meurent dans un espace de temps compris entre six et quinze jours, on voit des vers inoculés avec ces mêmes vibrions mourir après deux ou trois jours. Les papillons inoculés de même par piqûre mouraient en

vingt-quatre heures. Lorsque chez eux la contagion avait lieu par accouplement, la mort était plus lente à venir.

Mais il y a, comme l'a montré M. Ferry de la Bellone, un moyen sûr de tuer tous les vers par introduction des vibrions dans leur tube digestif, c'est de les faire pénétrer par l'anus, en poussant par cette voie une goutte d'un liquide provenant soit de la matière intestinale d'un ver malade, soit d'une fermentation artificielle de feuille. Tous les vers ainsi traités meurent en vingt-quatre ou trente-six heures au maximum, avec l'intestin rempli de ferments, et en présentant toutes les lésions anatomiques de la flacherie naturelle, lésions dont la plus apparente, indiquée par MM. Verson et Vlacovitch, est un épaississement de la paroi stomacale, et une sorte d'opacissement de la membrane anhiste de l'intestin. M. Ferry de la Bellone trouve, en outre, que cette membrane anhiste se recouvre, dans la flacherie naturelle ou artificielle, de plaques muqueuses formées de l'accumulation d'un nombre infini de chapelets de grains.

Cette différence dans les résultats de la pénétration des ferments par les deux extrémités du canal digestif n'a rien d'extraordinaire. A l'état normal, les sucs digestifs sont en mesure, par leur acidité, par leurs propriétés dissolvantes, d'empêcher l'évolution des microbes qu'apporte la feuille, et non seulement d'en paralyser le développement, mais même de l'empêcher d'une manière absolue pendant le court séjour que font d'ordinaire les aliments dans l'intestin. Ce qui le prouve, c'est que, dans un ver sain, on ne rencontre jamais ces microbes, même dans les portions postérieures du canal digestif, où pourtant la matière organique est comme dans un vase inerte, ainsi que nous l'avons vu. Mais que, dans ces régions, pénètrent des microbes en voie de développement, ils vont prendre possession du terrain, s'y établir solidement puisqu'ils ne rencontrent pas de résistance, et partir de là pour envahir tout l'organisme.

Influence de l'origine des vibrions. — Faite par cette voie, l'invasion est irrésistible, et les vibrions de toute provenance se montrent à peu près également actifs; mais il n'en est plus de même dans les autres modes de contagion. Les vibrions de feuilles de mûrier fermentées sont alors beaucoup moins virulents que les vibrions de vers morts flats, et il est curieux de voir reparaître à cette occasion les phénomènes d'augmentation d'intensité d'un virus par suite de son passage à travers l'organisme, phénomènes observés par MM. Coze et Feltz, par M. Davaine, et par une foule d'autres expérimentateurs. Si l'on inocule, en effet, comparativement, à deux lots de vers, des vibrions empruntés à une fermentation artificielle, et ceux que l'on prend dans un ver déjà contagionné avec la même fermentation, on voit ces derniers amener la mort en sept ou huit jours, tandis que les premiers ne font périr les vers qu'en douze ou quinze jours, et encore partiellement. La virulence s'est donc renforcée par le passage dans le corps du premier animal inoculé. Il y a plus : tous les vibrions empruntés à des vers n'ont pas la même activité. Par exemple, des vers contagionnés avec la substance de gros vers, morts-flats au voisinage de la montée, noirs et remplis de vibrions dans l'intestin et dans le sang, sont morts très rapidement en vingt-quatre ou quarante-huit heures.

Le vibrion de même origine n'est donc pas toujours identique à lui-même, et

c'est un point que nous ne devrons pas oublier. Disons enfin, pour terminer cette étude sur les causes qui rendent la contagion plus ou moins rapide, qu'il y a des vers plus ou moins résistants. Ceux qui sont atteints d'une autre maladie, de la pébrine, par exemple, ceux dont l'éclosion a été retardée pour une cause quelconque, éprouvent très rapidement les effets de la contagion. En revanche, de bons lots de vers élevés dans des conditions normales, et contagionnés à l'éclosion avec des vibrions de feuilles fermentées, peuvent n'éprouver qu'une atteinte partielle et donner quelques cocons. MM. Pasteur et Raulin ont même vu un lot, ayant reçu un repas de vibrions de feuilles, entre la première et la seconde mue, échapper complétement à la contagion.

Nous voyons, en résumé, qu'en ensemençant dans un organisme sain un élément figuré, le vibrion, emprunté à un organisme malade ou même à une fermentation artificielle, nous voyons apparaître, dans la grande majorité des cas, chez l'animal inoculé, une maladie de même nature que celle que nous présente l'animal malade, et que corrélativement on voit se développer dans l'organisme un élément figuré de même nature que celui que nous y avons introduit. C'est exactement la même observation qui nous a conduit, à propos de la maladie des corpuscules, à conclure, sans ambages et sans hésitation possible, que le parasite inoculé était bien la cause de la maladie. Les mêmes faits nous ont donné la même certitude au sujet de la septicémie et du charbon. Nous trouvons, au sujet de la flacherie, des animaux rebelles et d'autres plus ou moins résistants, nous avons rencontré pareille chose à propos du charbon. Nous trouvons que le vibrion de la flacherie est un organisme banal, nous savons que le vibrion septique est dans le même cas. Aucun de ces arguments ne peut donc entamer la notion de cause, telle que nous venons de l'établir.

Aussi serait-elle indiscutable et indiscutée, si elle était toujours aussi précise, et s'il n'y avait pas des cas nombreux où la maladie ne semble pas relever, dans son étiologie, d'un phénomène quelconque de contagion. C'est à ce point de vue nouveau que la flacherie se rapproche à la fois des grandes épidémies qui, comme le typhus des armées ou le choléra, éclatent presque soudainement au milieu des masses d'hommes, et des maladies sporadiques qui, comme les bronchites, les pneumonies ou la phtisie, frappent çà et là, quelquefois d'une façon aveugle, quelquefois guidées en apparence par des questions d'hérédité. Étudions cette seconde face de la question avec le même soin que la première, mais sans perdre le fil directeur qui nous a servi jusqu'ici.

Apparition spontanée. — La maladie des morts-flats n'est pas, nous l'avons dit, seulement contagieuse. Elle apparaît quelquefois spontanément dans une éducation, et y prend une marche tellement rapide qu'elle oblige à renoncer à l'idée d'une transmission de proche en proche. C'est surtout à cette forme de la maladie que se rapporte le tableau que nous avons tracé, en commençant, de ces vers qui, d'une santé parfaite et d'une croissance bien égale jusqu'au troisième ou quatrième jour après la quatrième mue, semblent pris de torpeur, fuient la feuille au lieu de se jeter sur elle avec voracité, et meurent après une courte période de mouvements languissants ou d'immobilité. Quelques heures suffisent à changer du tout au tout l'aspect d'une chambrée. Souvent vingt-qua-

tre heures suffisent à emporter la moitié ou les deux tiers de la plus belle éducation. Il est clair que la contagion ne joue qu'un rôle insignifiant dans cette marche foudroyante de la maladie. Celle-ci a-t-elle pour cela perdu ses caractères ordinaires? Non, car si l'on examine le canal digestif des vers malades, on le trouve rempli des mêmes organismes microscopiques que ceux que nous avons rencontrés dans nos vers contagionnés. Quelquefois, la masse alimentaire est spumeuse et l'intestin distendu par les gaz de la fermentation. C'est donc une fermentation qui se produit dans le tube digestif du ver, comme elle se produirait dans un vase inerte; mais si nous trouvons ainsi la cause efficiente ou prochaine de la maladie, nous avons en revanche à nous demander quelle est sa cause occasionnelle et pourquoi la feuille se met à fermenter dans certains cas, tandis que dans d'autres elle subit une digestion normale. Les germes des ferments proviennent de la surface de la feuille, cela n'est pas douteux. Ils sont constamment présents dans le cours d'une éducation. Pourquoi se développent-ils à un certain moment et pas à d'autres? Pourquoi se développent-ils sur certains lots et pas sur tous?

Cette question n'est autre que la suivante. Pourquoi, dans un animal quelconque qui se porte bien, les aliments subissent-ils la digestion régulière au lieu de se putréfier ou de fermenter, comme ils le feraient dans des vases inertes? Supposons en effet que la courte indisposition, que nous désignons sous le nom d'indigestion, soit pour nous une maladie mortelle, il est clair que nous serions, vis-à-vis de notre matière alimentaire, dans des conditions d'insécurité aussi grandes que le ver à soie au sujet de la sienne. Les digestions continuant en général à rester régulières, il arriverait que, par-ci par-là, quelques individus, il arriverait même que certaines familles, ayant fait un repas en commun, il pourrait même arriver que les habitants d'une même ville, si, comme les vers à soie, ils vivaient en phalanstère, pourraient être saisis et décimés au même moment par la même maladie meurtrière, frappant dès lors fortement l'attention, et qui, portant de la façon la plus évidente sur les organes digestifs, ferait se poser la question de savoir comment on la rencontre et comment on l'évite, et pourquoi la digestion est tantôt régulière et tantôt irrégulière.

Or, à cette question nous pouvons répondre: Nous savons les raisons pour lesquelles les aliments ingérés ne se comportent pas dans le canal digestif comme dans un flacon de verre. La première est qu'ils n'en ont pas le temps, si la digestion se fait bien, et la chose est surtout évidente pour le cas de l'absorption du vin doux et en général des jus sucrés, qui arrivent dans l'estomac avec de la levure toute formée, et y rencontrent de bonnes conditions de température, mais dont le sucre est absorbé et disparaît dans la circulation avant d'avoir pu se transformer en quantités sensibles. De plus, les réactions alternativement alcalines et acides des liquides digestifs qui viennent successivement baigner les aliments gênent la fermentation. Mais toutes ces raisons et toutes celles qu'on pourrait ajouter ne nous feraient pas une garantie suffisante. Pour nous, et contrairement à ce que nous avons observé pour le ver à soie, elles n'empêchent pas que dans tout l'intérieur du tube digestif, mais de préférence dans le gros intestin, on ne trouve, constamment développés, de gros vibrions ou d'autres êtres microscopiques, auxquels on est obligé d'attribuer la production des gaz intesti-

naux. Notre protection nous vient de ce que ces êtres, qui sont nos commensaux ordinaires, peuvent séjourner impunément dans notre tube digestif et même ajouter, comme nous l'avons vu, leur action à celle des sucs normaux de l'organisme. Au contraire des vers à soie, nous n'avons pas d'indigestion quand ils apparaissent. Ce n'est que dans quelques cas spéciaux que ces actions dévient, soit lorsqu'elles s'accomplissent sous l'influence d'autres êtres que les ferments habituels, par exemple à la suite de l'ingestion d'aliments corrompus, soit lorsque le volume de la masse alimentaire est trop grand pour les sucs digestifs disponibles, soit encore, comme nous le montre l'expérience journalière, lorsqu'il y a un affaiblissement quelconque du tube digestif, ou une répercussion sur les fonctions de digestion d'un trouble survenu dans une autre fonction.

S'il en est ainsi pour nous, on comprend que le ver à soie, qui est une véritable machine à digérer, puisse être encore plus facilement atteint dans des conditions analogues. On conçoit aussi que ces mauvaises digestions se produisent très-volontiers chez lui au moment de la grande frèze, pendant les quelques jours de voracité prodigieuse qui précèdent la montée à la bruyère pour la fabrication du cocon. Qu'on lui serve alors une feuille cueillie depuis quelque temps, déjà fermentée ou échauffée, les productions parasitaires, en pleines fonctions au moment de l'ingestion, vont se développer dans son intérieur, modifier par leurs produits le milieu où aurait pu s'accomplir une digestion normale. Le ver à soie deviendra malade, et les ferments seront alors, comme dans les cas de contagion véritable signalés plus haut, la cause de sa maladie. Qu'on serve, d'un autre côté, un repas de feuille saine et fraîche à un ver déjà malade d'une maladie quelconque, soit par suite d'une disposition congénitale, soit par suite d'un accident d'éducation, le ver digérera mal, et les productions parasitaires développées, causes de la flacherie et de la mort, pourront elles-mêmes être considérées comme l'effet de l'affaiblissement des fonctions des muqueuses digestives.

Prenons le cas intermédiaire entre ces deux extrêmes, celui où la feuille n'est pas tout à fait fraîche, où le ver n'est pas tout à fait malade, nous pourrons encore voir se développer la flacherie dans des conditions telles que la notion de cause et d'effet deviendra très incertaine. Mélangeons enfin en proportions diverses les causes d'insuccès qui viennent de la feuille avec celles qui viennent du ver, et nous allons voir apparaître, sur nos lots de vers, toutes les bizarreries et les irrégularités apparentes qui semblent caractériser l'invasion de la maladie au milieu des agglomérations humaines.

Prenons des vers dans un état de santé quelconque, très bon par exemple, et qui, à un moment quelconque, au voisinage des mues, si on veut, moment où ils sont très sensibles, ont froid, ou ont trop chaud, ou respirent mal par suite de l'accumulation, ou sont dans un air trop sec par la faute de l'éducateur, ou même rencontrent à un de leurs âges critiques une de ces journées orageuses où l'air ne circule pas, où on étouffe, où l'évaporation ne se fait plus. Il est sûr, par ce qu'on remarque à ces moments de diminution dans leur vitalité, qu'ils en sont atteints, et qu'ils souffrent. Ces mauvaises conditions extérieures sont-elles la maladie? Non, évidemment, puisque si elles cessent, en quelques heures, le ver a oublié leur influence et revient à la santé. Mais si elles durent, ou si elles ont

duré assez pour laisser le ver un peu affaibli, et qu'on vienne à lui servir une feuille cueillie depuis trop longtemps, qui s'est échauffée, qui a commencé à fermenter, il pourra s'ensuivre une mauvaise digestion soit générale, soit sur quelques vers seulement, les plus faibles. Ce sera une première et plus ou moins puissante apparition de la flacherie, qui pourra ensuite continuer ses ravages. Cette feuille, à son tour, est-elle la cause de la maladie? nullement, puisque consommée par d'autres vers bien portants à côté des premiers, elle n'a pas troublé leur santé. L'apparition de la maladie résulte d'un concours de circonstances qui peuvent être ou ne pas être, s'aider ou se contrarier, et comme ces circonstances sont variables d'une éducation à l'autre et même d'un individu à l'autre, on voit qu'il n'y a rien d'irrégulier au fond dans l'apparition de la maladie, et qu'elle frappe bien où elle doit frapper.

Puisque nous saisissons le mécanisme de son action, profitons-en pour résoudre à son sujet cette irritante question de cause ou d'effet, qui n'en est pas une, et qui n'a pris l'importance que l'on sait que par suite de la faiblesse de notre esprit, paresseux à saisir les mécanismes complexes et qui réclame des solutions par oui ou par non. Combien il y a-t-il de gens qui comprennent le mécanisme d'une horloge et qui considèrent comme un objet un peu mystérieux un équipage différentiel parce qu'il y a deux mécanismes d'horloge, deux rouages moteurs? Combien sont des exaltés en politique uniquement parce qu'ils ne peuvent suivre à la fois que les conséquences d'un seul principe? Il en est ainsi pour les maladies.

Y a-t-il des cas d'apparition spontanée de la flacherie où les vers meurent avec les caractères extérieurs de la maladie, et sans présenter dans leur intérieur de vibrions et de chapelets de grains. On n'en connaît pas. S'il y a quelques exceptions à cette règle tout à fait générale, on a le droit de les attribuer à ce fait que la symptomatologie de la flacherie n'est pas faite et qu'on est souvent exposé à prendre pour flacherie ce qui n'en est pas réellement. Il faut, en présence de ces incertitudes, négliger ces exceptions, et aller au cas général, que l'expérience montre être à peu près universel, de l'apparition corrélative des ferments de la feuille et de la flacherie : nul ver ne périssant flat en dehors de la présence des ferments, ceux-ci continuent à être, dans la maladie spontanée, comme dans les cas de contagion directe, la cause de la maladie. Pour bien spécifier leur relation étroite avec la flacherie, disons qu'ils en sont la cause prochaine.

Cette cause prochaine est toujours présente, nous le savons; elle n'est pas toujours active, mais elle est toujours prête à agir. C'est un ressort tendu. Il faut quelque chose qui le décroche, une cause occasionnelle, une nouvelle force superposée à la première. Ce sera là le rôle de l'une de ces influences extérieures que nous envisagions tout à l'heure, qui n'aura pas besoin d'être bien puissante, puisqu'il s'agit encore ici, comme dans les cas précédents, d'une lutte entre des cellules, dont l'issue est commandée par les circonstances les plus insignifiantes en apparence. Faut-il partir maintenant de cette notion de cause occasionnelle pour dire que la mise en liberté du ressort est un effet, et que par conséquent les vibrions sont l'effet d'une maladie préexistante. Il est clair que ce serait faire un mauvais raisonnement, mais il clair aussi qu'il n'y aucun argument à oppo-

ser à ceux qui le trouveraient bon. On serait sûr de n'être pas compris, ou il faudrait se lancer dans des subtilités sans fin. Les discussions sur ce sujet rappellent par leur allure et rappellent aussi par les mots employés les fameuses discussions sur la *grâce suffisante et la grâce nécessaire* entre les jésuites et Port-Royal. Il ne faut pas devenir scolastiques dans la science lorsque nous avons cessé de l'être dans les choses de religion.

Remarquons d'ailleurs qu'on pourrait soulever une discussion de cette nature à propos de toutes les maladies à microbes, même de celles où la relation de causalité avec la présence du microbe est le mieux établie, le charbon par exemple. Pour les moutons qui vivent dans la Beauce, et qui rencontrent pour ainsi dire des germes charbonneux à chaque pas, ce germe charbonneux ne suffit pas à amener la maladie, pas plus que le germe de la flacherie aux vers qui consomment de la feuille salie; il faut encore une cause occasionnelle, une lésion du canal digestif du mouton qui permette le passage de la bactéridie dans les tissus. Il est clair qu'on ne saurait pourtant dire que la maladie du charbon est l'effet de cette lésion.

De même, et dans un sujet moins bien connu, deux personnes s'exposent à un même courant d'air, ou prennent à contretemps ou par accident un même bain froid. L'une d'elles était souffrante, avait chaud, était en digestion, ou se trouvait menacée de la phtisie par des influences héréditaires; elle meurt, alors que l'autre n'éprouve pas même l'ombre d'une incommodité. Il est clair qu'on ne dira pas qu'elle est morte du bain, ou du courant d'air; on dira qu'elle est morte d'une maladie dont le développement a été provoqué par le bain ou le courant d'air, maladie à laquelle la prédisposaient, soit sa situation actuelle, soit encore, et c'est là le dernier point sur lequel je voudrais appeler l'attention, des influences d'hérédité qui, dans le cas de la flacherie, sont presque toujours prépondérantes.

Hérédité. — Les insuccès produits par les accidents d'éducation dont nous venons d'examiner l'influence sont et resteront toujours l'exception. Sur vingt échecs, par exemple, survenant pendant une éducation dans une région donnée, il n'y en a guère plus d'un ou deux directement imputables à l'éducateur. Quant aux autres, si l'on fait à leur sujet une espèce d'enquête, on constate presque toujours qu'ils ne sont pas irrégulièrement distribués. Ils se produisent de préférence sur certains lots de graines, partagés quelquefois entre plusieurs éducateurs, et qui, malgré cette circonstance, ont tous été attaqués de la même maladie. Il y a donc des graines qui semblent prédisposées à mourir de flacherie; en d'autres termes, il y a ici, comme pour la pébrine, une question d'hérédité que M. Pasteur a heureusement abordée et résolue dans ses éléments essentiels.

Toutes les éducations attaquées de la maladie des morts-flats ne périssent pas, en effet, à l'état de vers, et il y a telle production microscopique qui, tout en envahissant les vers affaiblis, et les affaiblissant davantage, leur laisse cependant assez de vigueur pour faire leur cocon et y subir les transformations ordinaires. C'est surtout le ferment en chapelets de grains qui réunit ces conditions. Il est rare qu'avec lui la fermentation des matières contenues dans le canal digestif

entraîne la mort, surtout s'il ne s'est développé que dans les derniers jours de la vie de la larve. La maladie se traduit alors par un état languissant, par une grande lenteur de mouvements, lorsque les vers montent à la bruyère et se préparent à filer leur soie. On est quelquefois averti de sa présence par une teinte rosée développée sur la peau du ver, de préférence sur les côtés, au voisinage des fausses pattes. C'est un nouvel exemple de la correspondance entre les altérations de la peau et celles de la muqueuse intestinale. Mais très-souvent ce caractère manque. La maladie est présente, mais n'empêche pas l'éducation de fournir un bon rendement en cocons, puisqu'il n'y a pas de mortalité sensible chez les vers. Comme beaucoup de maladies humaines, elle peut passer inaperçue pour le plus grand nombre, bien qu'elle n'échappe pas à un œil exercé.

C'est sous cette forme bénigne en apparence que la maladie est vraiment redoutable au point de vue pratique, car si, séduit par l'aspect florissant qu'elle laisse quelquefois à la chambrée, on consacre celle-ci au grainage, on obtiendra de la graine qui, grâce à un hazard, à des conditions encore mal déterminées, pourra réunir l'année suivante, mais qui sera affaiblie, surtout au point de vue des organes digestifs, et chez laquelle un accident d'éducation, qui avec un autre eût passé inaperçu, développera presque fatalement la maladie des morts-flats. Comme il n'y a pas d'éducations sans accidents et sans fautes, de pareilles graines échoueront chez presque tous ceux qui les élèveront, quelles que soient du reste les conditions de soins, de nutrition, de local, de températures différentes auxquelles elles seront soumises. Il y a donc ici aussi, comme pour la maladie des corpuscules, une hérédité, mais de nature différente. Ici elle est, pour ainsi dire, fonctionnelle, organique, et se traduit par un affaiblissement du tube digestif et une prédisposition à laisser s'établir des fermentations intérieures. Telle est la prédisposition évidente aux maladies de poitrine que des parents phtisiques transmettent à leurs enfants. Pour la maladie des corpuscules, l'hérédité était, au contraire, parasitaire, et tenait à l'introduction dans l'œuf d'un corpuscule provenant des parents. Il nous suffit d'avoir indiqué ces différences. L'avenir nous dira si elles sont aussi essentiellement distinctes qu'elles semblent l'être au premier abord.

BIBLIOGRAPHIE

Pasteur. — Études sur la maladie des vers à soie. Paris, 1879.

Verson et Vlacovitch — Recherches sur la gattine et la flacherie. Traduction de M. Maillot. *Publications de la station séricicole de Montpellier*, 1874.

Dr Ferry de la Bellone. — Recherches expérimentales sur les causes de la flacherie des vers à soie. *Comptes rendus du congrès international séricicole* en 1878.

TABLE ALPHABÉTIQUE

A

Acétate d'alumine. — Agent antiseptique, 830.

Acétique (acide). — Dans la fermentation alcoolique, 394; — dans la fermentation alcoolique et acétique des sucres, 558; — dans la fermentation au tartrate de chaux, 597; — dans le vin, 624. — Dans l'économie, 784. — Agent antiseptique, 830.

Acides volatils. — Du vin, 624; — du vinaigre, 525. — De la putréfaction, 757. — Dans l'économie, 784.

Actinobacter polymorphus, 555. — Du lait visqueux, 562. — Dans les œufs, 743.

Albuminoïdes (matières). — De la levure, 322. — Fermentation, 639, 663.

Alcaloïde septique. — De Zulzer et Sounenschein, 769; — dans l'économie, 788.

Alcool. — Procédés de dosage, 234. — Formation d' — avec l'aspergillus glaucus, 238; — avec le penicillium glaucum 237, avec le mucor racemosus, 240; — avec le mucor mucedo, 242; — avec le mucor circinelloïdes, 245; — avec le mucor spinosus, 246; — avec la mycolevure, 249; — avec les levures, 252; — dans la vie anaérobie de diverses cellules, 262; — dans la fermentatiou butyrique, 541. — Dans la fermentation alcoolique et acétique des sucres, 558; — dans la fermentation de la glycérine, 562.

Alcool butylique. — Dans la fermentation butyrique, 541.

Amidon. — Fermentation, 577, 483.

Amers (vins), 615.

Amylase. — Ses sources, 124. — Son action, 140. — Sa préparation, 148. — Étude de son action, 165, 183.

Antiseptiques. — Étude générale, 817; — chimiques, 827.

Aspergillus niger. — Description, 201. — Résistance au froid, 98. — Ses diastases, 190. — Son rôle comme agent de combustion, 220.

Aspergillus glaucus. — Sa description, 193. — Ses diastases, 194. — Son rôle comme agent de combustion, 222. — Formation d'alcool, 238.

Atténuation de la bactéridie charbonneuse, 110.

Azotique (acide). — Comme antiseptique, 831.

B

Bacillus amylobacter, 586.

Bacillus ureæ, 702.

Bactéridie charbonneuse. — Dans le sol, 92. — Action de la chaleur sur la —, 100. — Action de l'oxygène, 110.

Barattage de la crème, 674.

Benzoïque (acide). — Comme antiseptique, 831.

Beurre. — Composition, 677.

Bière. — Fabrication, 437 et suiv. — Composition, 461. — Caractéristique des diverses espèces de —, 462. — Nouveau procédé de fabrication de la —, 471.

Borique (acide). — Agent antiseptique, 832.

Brome. — Comme antiseptique, 834.

Butalanine. — Dans la putréfaction, 766.

Butalique (alcool). — Dans la fermentation butyrique, 541.

Butylique (ferment), 545.

Butyrique (ferment), 535, 542.

Butyrique (acide). — Dans la fermentation de la cellulose, 590; — dans le beurre, 678; — dans l'économie, 784.

C

Caséase du pancréas, 130; — des microbes, 131. — Son action, 141. — Sa préparation, 148. — Étude de son action, 162.

Cellulose. — Sa digestibilité, 136, 591. — Sa fermentation, 586.

Chaleur. — Action sur la bactéridie charbonneuse, 100. — Action sur les mucédinées, 100. — Action sur les gros infusoires, 101. Agent antiseptique, 822.

Charbon symptomatique. — Action des antiseptiques sur le microbe du —, 850.

Chauffage des vins, 626.

Chicha. — Fabrication de la —, 582.

Chloral. — Comme antiseptique, 833.

Chlore. — Comme antiseptique, 834.

Chlorhydrique (acide). — Comme antiseptique, 837.

Chloroforme. — Comme antiseptique, 837.
Conservation des semences de microbes, 116-117.
Corpuscules des vers à soie, 876.
Crème, 671. — Barattage, 674.

D

Dessiccation. — Comme agent antiseptique, 825.
Diastases. — État physique des —, 157. — Composition chimique des —, 155. — Conditions physiques de l'action des —, 157. — Conditions chimiques de l'action des —, 172. — Formule générale de l'action des —, 179. — Sécrétion des —, 190.
Digestion. — Relations avec la putréfaction, 790. — Stomacale, 795. — Intestinale, 797. — Chez les herbivores, 801.
Dissymétrie moléculaire. — Dédoublement de l'acide racémique par le penicillium glaucum, 223. — D'autres substances actives, 223. — Dédoublement du sucre interverti par la levure, 351.

E

Earth system, 806.
Eau oxygénée. — Comme agent antiseptique, 841.
Électricité. — Action sur les microbes, 96.
Épuration des eaux d'égout, 810.
Essences de thym, 838; — d'eucalyptus, 838; — de Wintergreen, 839.

F

Ferment (pouvoir). — Sa relation avec la dose d'oxygène, 253. — Perte du pouvoir ferment, 547.
Ferment lactique, 526; — butyrique, 535, 542; valérianique du lactate de chaux, 542; — butylique, 545; — gluconique, 564; — visqueux et mannitique, 572.
Fermentation alcoolique des sucres. — Dans un milieu purement minéral, 11. — Influence des agents physiques sur la —, 357. — Influence des agents chimiques sur la —, 361. — Produits principaux de la —, 371. Origine et variation de ces produits, 377. — Formation des matières grasses, 386; — de cellulose, 387; — de matières albuminoïdes 387. — Équations de la —, 397.
Fermentation de la bière, 464; — du vin, 482.
Fermentation lactique du sucre, 526; — butyrique du lactate de chaux, 535, 542; — valérianique du lactate de chaux, 542; — butylique du sucre, 545; — alcoolique et acétique des sucres, 555.
Formique (acide), dans l'économie, 784.
Froid. — Action sur les spores de mucédinées, 97. — Agent antiseptique, 821.
Fromages. — Fabrication, 683. — Maturation, 688, — Maladies, 690. — — affinés, 693; — à pâte dure, 695.
Fruits. — Respiration, 264. — Maturation, blessissement et fermentation, 265.

G

Gallique (acide). — Sa formation aux dépens du tannin, 226. — Industrie de l'—, 230.
Gaz du vin, 487; — de l'estomac, 796; — de l'intestin grêle, 797; — du gros intestin, 798; — chez les herbivores, 803.
Germes vivants. — Dans l'air, 45. — Leur dénombrement, 46, 66, 69. — Leur répartition, 63-76. — Sur les corps solides, 84; — dans les roches, 84; — dans l'économie, 85; — dans l'eau, 85; — dans le sol, 89.
Gluconique (acide). — Sa formation aux dépens du sucre, 568.
Glycérine. — Produite dans la fermentation alcoolique, 374. — Dosage, 375. — Son origine, 379. — Ses variations, 381. — Fermentation butylique, 546. — Fermentation alcoolique, 562.
Glycocolle. — Dans la putréfaction, 765; — dans l'économie, 786.
Graisse (maladie de la), 613.
Guanine. — Dans l'économie, 787.

H

Hippurique (Acide). — Fermentation, 700.
Humus. — Formation, 806.
Hydrogène. — Actions réductrices, 716; — dans la respiration, 782.
Hydrogène protocarboné. — Dans la putréfaction, 752; — dans la respiration, 783.
Hydrogène sulfuré. — Formation aux dépens du soufre, 717; — des sulfates, 719; — dans la putréfaction, 752; — dans la respiration, 783.
Hypermanganate de Potasse. — Comme antiseptique, 839.
Hypoxanthine dans l'économie, 787.

I

Indol. — Dans la putréfaction, 758. — Ses variations, 760.

INFUSOIRES CILIÉS. — Reproduction scissipare, 35.

K

KOJI (Fabrication du). — 573.
KOLPODE. — Reproduction scissipare, 35.
KOUMYS, 679.

L

LACTATE DE CHAUX, — 526 ; — Action du ferment butylique sur le —, 546.
LACTIQUE (Acide). — Dans l'économie, 785.
LAIT. — Constitution physique, 529, 667 ; — Coagulation, 531. — Composition, 666.
LEUCINE. — Dans la putréfaction, 763 ; — dans l'économie, 786.
LEVURE. — De mucor racemosus, 243. — Existence aérobie et anaérobie, 252, 435. — Origine de la — du vin, 275. — Conservation dans la nature, 287. — Épuisement et rajeunissement, 293. — Fructification, 295. — Purification, 300. — Levure haute, 305 ; — basse, 307. — Caséeuse, 309. — Nouvelle levure haute, 308. — Levures aérobies, 310. — Autres levures, 312.
LEVURE. — Composition élémentaire, 317 — Composition immédiate, 317. — Alimentation minérale, 326 ; — azotée, 312 ; — hydrocarbonée, 347. — Autophagie, 402.
LEVURE. — Respiration pendant l'inanition, 415 ; — pendant la fermentation, 418. — Aération de la levure, 422. — Son rôle de ferment, 429, 432. — Fabrication, 494. — Conservation, 499. — Purification, 500.
LUMIÈRE. — Action sur les microbes, 96.

M

MALADIES DU VIN ET DES BIÈRES. — 605.
MALATE DE CHAUX. — Fermentation succinique et acétique, 599 ; — propionique, 599 ; butyrique, 600.
MALT. — Sa fabrication, 438. — Sa composition, 441.
MANNITE. — Fermentation butylique, 546.
MATIÈRE COLORANTE DU VIN. — Propriétés, 486.
MERCURE (Sels de). — Comme antiseptiques, 839.
MICROBES. — Appareils de culture, 51, 81.
MICROCOCCUS OBLONGUS, 564. — Sa comparaison avec le mycoderma aceti, 569.
MOMIFICATION, 735.
MONADE CALYCINE. — Reproduction scissipare, 27. — Reproduction sexuelle, 29.
MUCOR CIRCINELLOÏDES, MUCEDO. — Formation d'alcool, 242, 245, 246.
MUCOR RACEMOSUS. — Formation d'alcool, 240.
MYCODERMA ACETI, 501. — Altérations du — 512 ; — dans le vin, 607.
MYCODERMA VINI, 514. — Substitution au mycoderma aceti, 517 ; — dans le vin, 605.
MYCOLEVURE. — Sa description, 249. — Formation d'alcool, 252.

N

NARCOTIQUES. — De la putréfaction, 773 ; — du microbe du choléra, 773.
NITRATES (Réduction des), 720. — Production et destruction des —, 723 ; dans les plantes, 784.
NITRIFICATEUR (Ferment), 709. Conditions de culture, 709. — Action de la température, 711.
NITRIFICATION, 708. — Naturelle et artificielle, 712.
NITRITES (Production des), 713, 721.

O

ŒUFS. — Putréfaction, 738. — Fermentation acide, 743.
OXALIQUE (Acide). — Dans l'économie, 785.
OXYGÈNE. — Action sur les microbes, 107. — Mort par l'oxygène, 114. — Mort par l'oxygène comprimé, 118. — Action sur les diastases, 172. — Action sur la levure, 422 ; — sur les germes de la levure, 277, 424, 429 ; dans la fabrication du vin, 479 ; — comme agent antiseptique, 841.
OZONE. — Agent antiseptique, 842.

P

PAIN. — Fermentation panaire, 584.
PANCRÉAS. — Son action sur l'amidon, 124 ; — sur la caséine, 130 ; — ses diverses diastases, 152.
PAPAÏNE, 137. — Sa préparation, 151.
PENICILLIUM GLAUCUM. — Description, 21. — Ses diastases, 194. — Son rôle comme agent de combustion, 223. — Action sur le tannin, 227. — Production d'alcool, 237 ; — dans l'huile, 634.
PEPSINE. — Ses sources, 128 ; — végétale, 137. — Étude de son action, 169. — Influence des sels, 184 ; — des acides et des bases, 183.
PHÉNIQUE (Acide). — Dans la putréfaction, 758. Ses variations, 760. — Agent antiseptique, 842.

PICRIQUE (Acide). — Agent antiscptique, 844.
POUSSE (Maladie de la), 609.
PRÉSURE. — Ses sources, 128-131. — Son action, 141. — Sa préparation, 145. — Étude de son action, 158. — Influence des sels, 173; — des acides, 177; — des bases, 178.
PROPIONIQUE (Acide). — Dans la fermentation du tartrate de chaux, 597; — du malate de chaux, 599; — dans l'économie, 784.
PTOMAÏNES, 770.
PUTRÉFACTION. — Du bouillon, 727; — des substances solides, 729; — des cadavres, 731; — du sang, 736; — des œufs, 738. — Produits gazeux, 747. — Produits volatils, 756. — Produits fixes, 763.
PYOCYANINE, 774.

R

RÉSORCINE. — Agent antiseptique, 845.

S

SACCHAROMYCES. — Diverses espèces du genre, 312.
SACCHAROMYCES PASTORIANUS, 291, 314. — Son épuisement, 293. — Son rajeunissement, 294.
SALICYLIQUE (Acide). — Agent antiseptique, 845.
SCATOL. — Dans la putréfaction, 758. — Ses variations, 760.
SEPSINE. — Dans la putréfaction, 769.
SEPTICÉMIE, 864.
SOUTIRAGES. — De la bière, 466; — du vin, 488.
SUC GASTRIQUE, 795.
SUCCINIQUE (Acide). — Production dans la fermentation alcoolique, 374. — Dosage, 375. — Son origine, 379. — Ses variations, 381; — dans l'économie, 785.
SUCRASE. — Ses sources, 126. — Son action, 138. — Sa disparition, 150. — Étude de son action, 163. — Influence des sels neutres, 180; — des bases, 181; — des acides, 180.
SUCRE. — Fermentation alcoolique, 371; — lactique, 526; — butylique, 546; — alcoolique et acétique, 555; — gluconique, 564; — visqueuse et mannitique, 572. — Sa transformation en gomme de sucrerie, 573.
SULFUREUX (Acide). — Agent antiseptique, 847.
SULFURIQUE (Acide). — Agent antiseptique, 846.

T

TANNIN. — Combustion par les mucédinées, 226.
TARTRATE D'AMMONIAQUE. — Fermentation, 604.
TARTRATE DE CHAUX. — Fermentation propionique et acétique, 595; — acétique, 599.
TOURNÉS (Vins), 612.
TYROSINE. — Dans la putréfaction, 765; — dans l'économie, 786.
TYROTHRIX TENUIS, 640; — filiformis, 644; — distortus, 646; — geniculatus, 648; — turgidus, 650; — scaber, 652; — virgula, 635; — urocephalum, 656; — claviformis, 659; — catenula, 660.

U

URÉE. — Fermentation, 697; — dans l'économie, 786.
URINES AMMONIACALES, 702.

V

VERS A SOIE. — Éducations, 873. — Éducations corpusculeuses, 874.
VIBRION BUTYRIQUE, 535.
VIBRION PYOGÈNE, 90.
VIBRION SEPTIQUE. — Dans le sol, 91. — Description et propriétés, 864.
VIE DANS L'HUILE, 633.
VIN. — Origine de ses levures, 275. — Fabrication, 477. — Vieillissement, 491. — Poussé, 609; — tourné, 612; — gras, 613.
VITALISME, 853.
VINAIGRE. — Procédé orléanais, 501, 510, 518. — Procédé allemand, 521; — luxembourgeois, 522. — Procédé Pasteur, 523. — Analyse, 524.
VIRULENCE (Variations de la). — Dans la bactéridie charbonneuse, 110; — dans le vibrion septique, 869.
WATER-SYSTEM, 808.

X

XANTHINE. — Dans l'économie, 787.

Z

ZINC (Sels de). — Comme antiseptiques, 849.

FIN DE LA TABLE ALPHABÉTIQUE

TABLE DES MATIÈRES

Pages

PRÉFACE. 1

CHAPITRE I. — **Historique**. 3

CHAPITRE II. — **Rôle des ferments dans la nature**. 14

Idée générale de la vie. 14
Caractère ferment. 17

CHAPITRE III. — **Notions générales sur les ferments**. 20

Moisissures. 21
Levures, mycodermes, torulas. 25
Micrococcus. 26
Monades. 27
Bactéries, bacillus et vibrions. 30
Vitesse de reproduction des microbes. 34

CHAPITRE IV. — **Génération spontanée**. 38

Ère du microscope 39
Présence de germes dans l'air. 45
Dénombrement approximatif des germes de l'air. 46
Parmi les germes de l'air, il y en a de vivants. 47
Appareils de culture des microbes. 51
Expériences de M. Tyndall. 55
Expériences des ballons à col sinueux. 57
Procédés pour recueillir les liquides de l'organisme. 58

CHAPITRE V. — **Répartition générale des germes dans l'air**. 63

Méthodes directes de dénombrement des germes de l'air 66
Méthodes par ensemencement dans un liquide nutritif. 69
Conditions théoriques d'une bonne méthode. 70
Premières recherches aéroscopiques. 71
Recherches faites à Montsouris. 72
Étude des germes vivants. 74
Distribution des germes vivants suivant les lieux. 76

CHAPITRE VI. — **Répartition des germes sur les solides et dans les eaux**. 81

Remplissage des tubes ou des matras Pasteur. 81
Moyens d'étudier les germes sur les corps solides. 84
Étude des germes dans les roches. 84
Germes dans l'économie. 85
Étude de l'air. 85
Vibrion pyogène 90
Vibrion septique. 91
Bactéridie charbonneuse. 92

Pages
CHAPITRE VII. — **Action de la chaleur sur les microbes et leurs germes.** . 96
Études des agents physiques. 96
Résistance au froid. 97
Mucédinées. 100
Gros infusoires. 101
Monades, levures, bactéries. 103

CHAPITRE VIII. — **Action de l'air sur les microbes.** 107
Changements physiologiqnes produits par l'oxygène. 110
Mort des ferments sous l'action de l'oxygène. 114
Expériences de M. Duclaux. 115
Modes de conservation des semences de microbes. 117
Expériences de M. P. Bert. 118

CHAPITRE IX. — **Conditions d'existence des êtres microscopiques.** 120
Nutrition des êtres supérieurs. 122
Amylase. 124
Sucrase. 126
Présure, caséase et pepsine. 128
Présure et caséase des microbes. 131

CHAPITRE X. — **Rôle des diastases.** 134
Diastases de la digestion animale. 134
Diastases de la digestion végétale. 136
Sucrase. 138
Amylase. 140
Émulsine. 140
Myrosine. 141
Présure et caséase. 141
Individualité des diverses diastases. 141

CHAPITRE XI. — **Préparation des diastases.** 144
Présure 145
Caséase. 148
Amylase. 148
Sucrase. 150
Pepsine. 150
Papaïne. 151
Diastases du pancréas. 152
Composition chimique des diastases. 155

CHAPITRE XII. — **Conditions physiques de l'action des diastases.** 157
État physique des diastases 157
I. *Présure.* Influence de la quantité. 158
Influence de la température. 161
II. *Caséase.* 162
III. *Sucrase.* 163
Marche de la trausformation du sucre. 164
Influence de la quantité. 166
Influence de la température. 166
IV. *Amylase.* 166
Influence de la quantité. 167
Influence du temps. 167
Influence de la température. 167

Pages
V. *Pepsine* 169

CHAPITRE XIII. — **Conditions chimiques de l'action des diastases** 172
Action de l'oxygène 172
I. *Présure.* Action des sels neutres 173
Action des acides 177
Action des bases 178
Action des sels alcalins 178
II. *Sucrase* 179
Action des sels neutres 180
Action des acides 180
Action des bases et des sels alcalins 181
Action de divers agents antiseptiques 182
III. *Amylase* 183
IV. *Pepsine.* Action des bases 183
Action des acides 183
Action des sels 184
Résumé des faits qui précèdent 185

CHAPITRE XIV. — **Sécrétion des diastases** 188
Formule de l'action des diastases 188
Marche de la sécrétion des diastases 190
Conditions de production des diastases 192
Diastases de l'aspergillus glaucus 192
Diastases du penicillium glaucum 194
Plan général de l'étude des ferments 196

CHAPITRE XV. — **Nutrition générale des ferments. — Aspergillus niger** . . . 199
Influence des éléments minéraux 205
Rôle physiologique des éléments minéraux 207

CHAPITRE XVI. — **Aliments hydrocarbonés de l'aspergillus** 212
Rôle de l'eau 212
Rôle de l'acide tartrique 213
Rôle du sucre 215

CHAPITRE XVII. — **Mécanisme de la combustion des aliments hydrocarbonés** 219
Combustion du sucre 219
Combustion des aliments hydrocarbonés 220
Aspergillus glaucus 222
Penicillium glaucum 222
Décomposition de l'acide racémique par le penicillium glaucum 223
Travaux de M. Le Bel 223

CHAPITRE XVIII. — **Combustion du tannin par les mucédinées** 226
Fermentation du tannin. — Historique 226
Point de mucédinée, point d'acide gallique 227
Conditions de nutrition du ferment 227
Action de l'air 228
Chimie de la réaction 228
Phénomènes consécutifs au dédoublement du tannin 229
Action de la végétation superficielle 230
Industrie de l'acide gallique 230

Pages
CHAPITRE XIX. — **Transitions entre les mucédinées et les levures** 232
Recherches de quantités très petites d'alcool 234
Penicillium glaucum 237
Aspergillus glaucus 238
Mucor racemosus 240
Mucor mucedo 242
Mucor circinelloïdes 245
Mucor spinosus 246

CHAPITRE XX. — **Levures aérobies et anaérobies** 249
Mycolevures 249
Levures 252

CHAPITRE XXI. — **Vie aérobie et anaérobie des cellules** 262
Expériences de M. Pasteur 263
Expériences de MM. Lechartier et Bellamy 264
Expériences de M. Muntz 269
Ubiquité de l'alcool 271

CHAPITRE XXII. — **Origine des levures** 273
Conditions de l'apparition des levures 273
Origine de la levure du vin 275
Nature des poussières de la surface de la grappe 277
Apparition et disparition des levures du vin 281
Raisins sans germes extérieurs 283

CHAPITRE XXIII. — **Polymorphismes des levures** 286
Durée de la vie d'un globule de levure 287
Recherches de M. Hansen 287
Recherches de M. Boutroux 288
Forme polymorphe de la levure 289
Saccharomyces Pastorianus 291
Épuisement de la levure 293
Rajeunissement du saccharomyces 294
Fructification des levures 295
Expériences de M. D. Cochin 298

CHAPITRE XXIV. — **Purification des levures** 299
Purification des levures commerciales 300
Séparation des espèces 301
Action de l'épuisement 302
Action de la chaleur 302
Différences individuelles des globules de levure 303
Levures spontanées 304

CHAPITRE XXV. — **Levures diverses** 305
Levure haute 305
Levure basse 307
Nouvelle levure haute 308
Levure caséeuse 309
Levures aérobies 310
Autres levures 312

CHAPITRE XXVI. — **Composition chimique de la levure** 316
Analyse élémentaire 317
Analyse immédiate 317
Celluloses de la levure 319

Pages
Matières grasses de la levure 321
Matières azotées de la levure 322
Résultats généraux de l'analyse immédiate 323
Matières minérales 324

CHAPITRE XXVII. — **Nutrition minérale de la levure** 326
Aliment minéral 326
Travaux de M. Mayer 328
Rôle du soufre 330

CHAPITRE XXVIII. — **Alimentation azotée de la levure** 332
Absorption d'ammoniaque pendant la fermentation 333
Aliments azotés de prédilection de la levure 336
Résultats de M. Mayer 338
Résultats de MM. Bialoblocki et Rösler 339
Matériaux d'élimination de la levure 340
Valeur nutritive de l'eau de levure 343
Valeur nutritive des sels ammoniacaux 344

CHAPITRE XXIX. — **Aliments hydrocarbonés de la levure** 347
Sucre de cannes 347
Autres sucres fermentescibles 350
Fermentation élective des sucres 351
Constitutiou du sucre interverti et du sucre neutre 352
Action des levures sur le sucre neutre et le sucre interverti 354
Expériences de M. Gayon 354

CHAPITRE XXX. — **Circonstances qui favorisent ou entravent la fermentation alcoolique** 357
Action de la pressiou 357
Action de la chaleur 357
Action du froid 358
Action de l'électricité, de la lumière 359
Action de l'eau 359
Action des quantités de levure et du temps 360
Action des gaz sur la fermentation 361
Action des métalloïdes 362
Action des acides 362
Action des bases 363
Action des carbonates alcalins 363
Action des sels 363
Action de l'acide cyanhydrique 366
Action du chloroforme 367
Action de la quinine, de la nicotine, de la strychuine, de la créatine et de la créatinine 368
Action du borax 368
Action du silicate de soude 368
Action d'un certain nombre d'autres corps 369

CHAPITRE XXXI. — **Produits principaux de la fermentation alcoolique** . . . 371
Dosage de l'acide carbonique 371
Analyse du liquide fermenté 374
Procédés de M. Macagno 375

CHAPITRE XXXII. — **Origine et variations des principaux produits de la fermentation alcoolique** 377
Formation constante de glycérine et d'acide succinique 378

Pages
La glycérine et l'acide succinique proviennent du sucre 379
Variations de la glycérine et de l'acide succinique. 381
Influence de la uature des sucres. 382

CHAPITRE XXXIII. — **Rôle du sucre dans la fermentation alcoolique**. 386
Formation des matières grasses. 386
Formation de la cellulose. 387
Formation de matières alhuminoïdes. 387
Augmentation dc poids dc la levure pendant la fermentation 388
Relations du sucre avec la levure. 391
Récapitulation. 391
Étude de l'extrait azoté de la levure. 393
Production d'acides gras. 394

CHAPITRE XXXIV. — **Équations de la fermentation alcoolique**. 397

CHAPITRE XXXV. — **Autophagie de la levure** 402
Expériences de MM. Schutzenherger et Dcstrem. 404
Produits de l'autophagie de la levure. 408
Travaux de M. Béchamp. 409
Travaux de M. Schutzenherger. 410
Relations des phénomènes de l'autophagio avec les phénomènes de la vie normale. . 411

CHAPITRE XXXVI. — **Rapports dc l'oxygène avec la levure**. 415
Respiration de la levure inanitiée. 415
Respiration de la levnre en fermentation. 418
Expériences de M. Hansen. 419
Aération du liquide fermentescible. 420
Aération de la levure. 422
Aération de la semeuce. 424

CHAPITRE XXXVII. — **Théorie de la fermentation alcoolique**. 427
Rôle de l'oxygène. 429
Élévation de la température pendant la fermentation. 431
Ferment et matière fermentescihle 432
Vie anaérohie. 435

CHAPITRE XXXVIII. — **Fabrication de la bière. — Préparation du moût**. . . 437
Maltage. 438
Touraillage. 439
Composition dn malt. 441
Brassage. 442
Méthode par décoction. 443
Méthode par infusion. 446
Composition du moût. 447
Cuisson du moût. 448

CHAPITRE XXXIX. — **Fabrication de la bière. — Aération du moût** 450
Dissolution de l'oxygène dans le moût. 450
Oxydation du moût. 453
Relations de la levure et de l'oxygène du moût 454
Pratique de l'aération des moûts et des hières. 457
Atténuation. 459
Caractéristique des diverses hières. 462

CHAPITRE XL. — **Fabrication de la bière. — Fermentation et soutirage**. . 464
Bières autrichienes. 467
Autres modes de fermentation. 469

Pages
Choix des levures. 470
Nouveau procédé de fabrication de la bière. 471
Préparation du levain pnr. 472
Fermentation à l'abri des impuretés. 473
Aération du liquide. 475

CHAPITRE XLI. — **Fabrication du vin** 477

Préparation du moût, égrappage et foulage. 478
Action physiologique de l'aération du moût. 478
Action chimique de l'aération du moût. 480
Fermentation. 482
Décuvaison et entonnage. 483
Éléments du vin, sucre, acides. 484
Matière colorante. 486
Gaz du vin. 487
Soutirages. 488
Conservation en tonneaux. 489
Vieillissement du vin. 491

CHAPITRE XLII. — **Fabrication de levure**. 494

Procédé de M. Ed. Schubert. 495
Conservation de la levure. 499
Purification des levures de brasserie. 500

CHAPITRE XLIII. — **Mycoderma aceti**. 501

Fermentation acétique. 501
Mycoderma aceti. 503
Culture du mycoderma aceti. 505
Propriétés du mycoderma aceti. 507
Étude du procédé par les copeaux de hêtre. 508
Étude du procédé français. 510
Altérations dans la structure et les fonctions du mycoderma aceti. 512

CHAPITRE XLIV. — **Mycoderma vini. — Industrie du vinaigre**. 514

Autonomie du mycoderma vini. 515
Substitutions réciproques du mycoderma aceti et du mycoderma vini. 517
Procédé orléanais. 518
Procédé allemand. 521
Procédé luxembourgeois. 522
Procédé Pasteur. 523
Analyse des vinaigres. 524

CHAPITRE XLV. — **Fermentation lactique du sucre**. 526

Conditions du développement du ferment lactique. 528
Constitution physique et chimique du lait. 529
Coagulation du lait. 531
Moyens d'éviter la coagulation. 532

CHAPITRE XLVI. — **Fermentation du lactate de chaux**. 535

Fermentation butyrique du lactate de chaux. 535
Produits de la fermentation butyrique. 541
Autre fermentation butyrique du lactate de chaux. 542
Fermentation propionique du lactate de chaux. 542
Fermentation valérianique du lactate de chaux. 542
Synthèse de tous ces phénomènes. 543

Pages

CHAPITRE XLVII. — **Ferment butylique.** 545
Ses aliments hydrocarbonés. 546
Perte du pouvoir ferment. 547
Conditions physiologiques de la fermentation. 549
Conditions de température. 550
Analyse des produits. 551
Produits de la fermentation. 551
Fermentation du butyrate de chaux. 553

CHAPITRE XLVIII. — **Fermention alcoolique et acétique des sucres.** 555
Actinobacter polymorphus. 555
Actinobacter du lait visqueux. 562
Autre fermentation alcoolique de la glycérine. 562

CHAPITRE XLIX. — **Fermentation gluconique.** 564
Micrococcus oblongus. — Étude morphologique. 564
Étude physiologique. — Oxygène. 565.
Aliments divers. 566
Processus de la fermentation. 567
Produits de la fermentation. 568
Miccococcus oblongus et mycoderma aceti. 569

CHAPITRE L. — **Autres fermentations des sucres.** 571
Fermentation visqueuse et mannitique. 572
Formation de la gomme de sucrerie. 573

CHAPITRE LI. — **Ferments de l'amidon.** 577
Fabrication du koji. 578
Préparation de la chicba. 582
Liquéfaction de l'amidon cru. 583
Fermentation panaire. 584

CHAPITRE LII. — **Fermentation de la cellulose.** 586
Bacillus amylobacter. 586
Destruction de la cellulose. 588
Action sur les diverses celluloses 589
Produits de la fermentation. 590
Digestibilité de la cellulose. 591
Macération et fossilisation végétales. 592

CHAPITRE LIII. — **Fermentation des acides organiques.** 595
Fermentation propionique et acétique du tartrate de chaux. 595
Fermentation acétique du tartrate de chaux. 599
Fermentation succinique et acétique du malate de chaux 599
Fermentation propionique du malate de chaux. 599
Fermentation butyrique du malate de chaux. 600
Formules générales 600
Fermentation dn tartrate d'ammoniaque. 604

CHAPITRE LIV. — **Maladies des vins et des bières.** 605
I. Mycoderma vini. 605
II. Mycoderma aceti. 607
III. Vins poussés. 609
IV. Maladies des vins tournés du Midi de la France. 612
V. Vins gras ou filants. 613
VI. Maladie de l'amertume. 615
VII. Maladies des bières. 618

Pages

CHAPITRE LV. — **Origine des maladies du vin. — Moyens de les prévenir.** 622

Vins de pressurage. 623
Acides volatils normaux dans le vin. 624
Produits divers de l'action des ferments. 625
Soutirages. 625
Procédé de M. Pasteur. 626
Chauffage en bouteilles. 629
Chauffage en tonneaux. 629
Emploi de la chaleur solaire. 630

CHAPITRE LVI. — **Ferments des matières grasses.** 633

Mucédinées dans l'huile. 633
Rôle de l'eau. 634
Alimentation des mucédinées dans l'huile. 636
Autres espèces vivant dans l'huile. 637

CHAPITRE LVII. — **Ferments des matières albuminoïdes.** 639

Tyrothrix tenuis. 640
Tyrothrix filiformis. 644
Tyrothrix distortus. 646
Tyrothrix geniculatus. 648
Tyrothrix turgidus. 650
Tyrothrix scaher. 652
Tyrothrix virgula. 653

CHAPITRE LVIII. — **Ferments anaérobies de la caséine.** 656

Tyrothrix urocephalum. 656
Tyrothrix claviformis. 659
Tyrothrix catenula. 660
Mécanisme de la destruction de la caséine. 662
Fermentation et putréfaction des matières albuminoïdes. 663

CHAPITRE LIX. — **Lait, crème et beurre.** 666

Composition du lait. 666
Constitutiou physique du lait. 667
Écrêmage. 671
Barattage. 674
Koumys. 679

CHAPITRE LX. — **Principes généraux de la fabrication des fromages.** 683

Fabrication du fromage du Cantal. 683
Coagulation du lait 684
Fermentation de la tome. 686
Maturation des fromages. 688
Maladies du fromage. 690
Rôle de la matière grasse. 691
Fromages affinés. 693
Fromages à pâte dure. 695

CHAPITRE LXI. — **Fermentation de l'urée.** 697

Ferment en chapelets. 698
Autres ferments de l'urée. 701
Pénétration des ferments de l'urée dans l'organisme. 702

CHAPITRE LXII. — **Nitrification.** 708

Cause active de la nitrification. 708
Conditions de culture du ferment nitrificateur. 709

Pages
Action de la température. 711
Action des antiseptiques. 711
Nitrification naturelle et artificielle. 712
Production des nitrites. 713

CHAPITRE LXIII. — **Actions réductrices des ferments**. 716
Action de l'hydrogène. 716
Formation d'acide sulfhydrique aux dépens du soufre. 717
Production des sulfates. 719
Réduction des nitrates. 720
Synthèse des faits qui précèdent. 723

CHAPITRE LXIV. — **Marche générale de la putréfaction**. 726
Putréfaction dans un liquide organique. 727
Putréfaction des substances solides. 729
Putréfaction dans les cadavres. 731
Putréfaction à l'air libre. 732
Putréfaction dans la terre. 733
Formation du gras de cadavre. 734
Putréfaction sous l'eau. 734
Momification. 735
Putréfaction du sang. 736

CHAPITRE LXV. — **Putréfaction des œufs**. 738
Caractères physiques de la putréfaction des œufs. 739
Produits solides et liquides de la putréfaction. 740
Agents de la putréfaction des œufs. 742
Fermentation acide. 743
Présence de moisissures. 744
Origine des ferments de l'œuf altéré. 744

CHAPITRE LXVI. — **Produits gazeux de la putréfaction**. 747
Azote. 751
Hydrogène sulfuré. 752
Hydrogènes carbonés. 752
Hydrogènes phosphorés. 753
Ammoniaque. 753
Réactif de Helmholtz. 754

CHAPITRE LXVII. — **Produits volatils de la putréfaction**. 756
Étude des acides volatils. 757
Séparation du phénol, de l'indol et du scatol. 758
Recherche du phénol. 758
Phénol. 759
Indol. 760
Scatol. 760
Variations dans la présence et les proportions de phénol, d'indol et de scatol. 760

CHAPITRE LXVIII. — **Produits fixes de la putréfaction**. 763
Leucine. 763
Glycocolle. 765
Tyrosine. 765
Butalanine. 766
Produits alcalins de la putréfaction. 768
Sepsine. 769
Alcaloïde septique de Zulzer et Sonnenschein. 769
Recherches de Selmi. 770

Pages
Alcaloïdes vénéneux formés en présence de l'arsenic. 772
Narcotiques produits pendant la putréfaction. 773
Narcotique du choléra des poules. 773
Pyocyanine. 774
Acides fixes de la putréfaction. 776

CHAPITRE LXIX. — **Ressemblances entre les phénomènes de putréfaction et les phénomènes normaux de l'organisme**. 779
Acide carbonique. 780
Azote. 781
Hydrogène. 782
Hydrogène sulfuré et hydrogène protocarboné. 783
Ammoniaque. 783
Acide nitrique 784
Acides gras. 784
Acides fixes. 785
Glycocolle. 786
Leucine. 786
Tyrosine. 786
Guanine. 787
Hypoxanthine. 787
Xanthine. 787
Alcaloïdes vénéneux. 788

CHAPITRE LXX. — **Putréfaction et digestion**. 790
Salive. 793
Disgestion stomacale. 795
Digestion dans l'intestin grêle. 797
Digestion dans le gros intestin. 798
Digestion chez les herbivores. 801
Part des ferments dans la digestion. 804

CHAPITRE LXXI. — **Formation de l'humus**. 805
Destruction des éléments azotés 806
Earth-system. 806
Water-system. 808
Système d'épuration des eaux d'égout dans le sol. 810
Combustion lente des matériaux azotés dans le sol. 812
Destruction des éléments hydrocarbonés dans le sol. 813
Combustion au contact de l'air. 814
Destruction à l'abri de l'air. 815

CHAPITRE LXXII. — **Moyens physiques de destruction des germes**. 817
Conditions d'une étude précise. 818
Froid. 821
Chaleur. 822
Dessiccation. 825

CHAPITRE LXXIII. — **Étude des antiseptiques**. 827
Acide acétique. 830
Acétate d'alumine. 830
Acide azotique. 831
Acide benzoïque et benzoates. 831
Acide borique et borates. 832
Chloral. 833
Chlore, brome, iode. 834

Pages
Acide chlorhydrique. 837
Chloroforme. 837
Essences. 838
Essence de thym. 838
Essence d'eucalyptus. 838
Essence de wintergreen. 839
Hypermanganate de potasse. 839
Mercure. 839
Oxygène. 841
Ozone. 842
Acide phénique. 842
Acide picrique. 844
Résorcine. 845
Acide salicylique. 845
Acide sulfurique. 846
Acide sulfureux. 847
Zinc. 849
Remarques générales. 850

CHAPITRE LXXIV. — **Conception physique de la vie**. 853
Théories réalistes. 853
Idée moderne de la vie. 855
Notion de la maladie. 855
Étude des propriétés des cellules. 857

CHAPITRE LXXV. — **Septicémie**. 864
Vibrion septique. 864
Caractère anaérobie du vibrion septique. 866
Conservation des germes septiques. 867
Rôle de l'air. 868
Ubiquité du vibrion septique. 869
Forces naturelles diminuant ou supprimant la virulence. 869
Action de la résistance vitale. 870

CHAPITRE LXXVI. — **Maladie des corpuscules**. 873
Marche générale de l'éducation des vers à soie. 873
Éducations corpusculaires. 874
Étiologie de la maladie. 875

CHAPITRE LXXVII. — **Maladie des morts flats**. 880
Étiologie. 882
Contagion directe. 883
Influence du mode de contagion. 884
Influence de l'origine des vibrions. 885
Apparition spontanée. 886
Hérédité. 890

TABLE ALPHABÉTIQUE. 893

TABLE DES MATIÈRES. 897



FIN DE LA TABLE DES MATIÈRES

PARIS. — IMP. C. MARPON ET E. FLAMMARION, RUE RACINE, 26.